Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. v. Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **F. Tangl**-Budapest, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechsundsiebzigster Band.

1916.

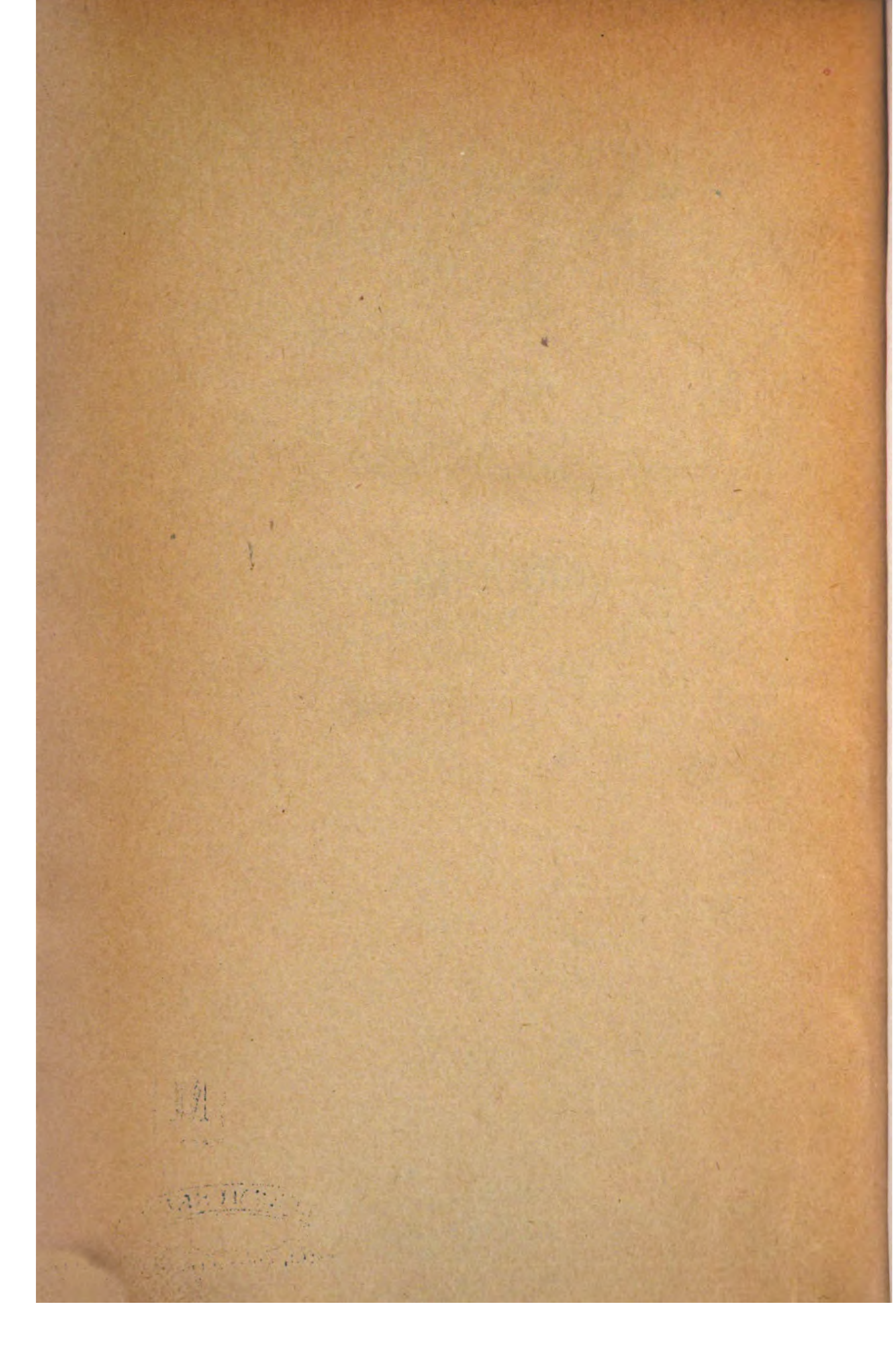


Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1916.






F.G.KOSTER·BOEKBINDER
AMSTERDAM



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. v. Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **F. Tangl**-Budapest, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Roehmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechsundsiebzigster Band.





Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1916.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Über parenterale Rohrzuckerinjektionen und die „angebliche" Invertinbildung.

Von

E. O. Folkmar.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 14. April 1916.)

Das Problem vom Geschick des Rohrzuckers im Organismus hat bereits sehr früh das Interesse der Forscher in Anspruch genommen. Man entdeckte bald, daß er, wie andere Disaccharide, bei Zufuhr per os im Darmkanal von den Enzymen des Darmsekrets gespalten und als Monosaccharid resorbiert wurde.

Wie geht es nun aber bei parenteraler Einführung des Rohrzuckers zu, wenn also die Enzyme im Darmkanal nicht vor der Resorption darauf wirken? Darüber waren die Ansichten im Laufe der Zeit geteilt.

Besonders lebhaft wurde die Erörterung dieser Frage eigentlich erst von 1897 an, als Voit[1]) seine Untersuchungen über das Geschick verschiedener Zuckerarten und die Ausscheidung im Harn bei subcutaner Injektion veröffentlichte. Er findet den Rohrzucker quantitativ im Harn ausgeschieden. Indessen bespricht er nur 4 Versuchspersonen, denen er im ganzen von 1 bis 25 g Rohrzucker (also nie mehr als höchstens 0,5 g pro Kilogramm) auf einmal injiziert und findet diese Mengen im Laufe von $6^1/_2$ bis 20 Stunden im Harn wieder.

Diese von Voit gewonnenen Resultate meinen Johansson, Billström und Heijl[2]) bestätigen zu können, allerdings

---

[1]) Deutsches Arch. f. klin. Med. 58, 541, 1897.

[2]) Skand. Arch. f. Physiol. 16, 269, 1904.

nicht durch Analyse des ausgeschiedenen Harns (denn solche vollständigen Harnanalysen finden sich nicht bei ihnen), sondern durch Betrachtung der durch die Lungen ausgeschiedenen CO_2-Menge. Sie finden, daß diese nicht zunimmt, wenn auch anzunehmen ist, daß verhältnismäßig bedeutende Mengen davon im Blute zirkulieren.

Im Gegensatz zu diesen Forschern behauptet Jappelli[1]), daß subcutan oder intravenös injizierter Rohrzucker nie in seiner ganzen Menge durch die Nieren ausgeschieden, daß aber ein Teil davon zurückgehalten wird. Ferner meint er, gleichzeitig mit der Rohrzuckerausscheidung eine geringe Ausscheidung von Glucose zu finden; diese Glucosurie erreicht nie eine besondere Höhe, setzt sofort nach der ersten Injektion ein und hört ein wenig früher oder gleichzeitig mit den Rohrzuckerinjektionen auf. Verfasser meint, die Rohrzuckerretention in der Weise erklären zu können, daß ein Teil davon in unverändertem Zustand in der Leber aufbewahrt wird und daher ganz langsam mit dem Blut in den Ventrikel hinausgeführt oder im Speichel (vielleicht ganz geringe Mengen in der Galle) ausgeschieden wird, und das fernere Geschick dieser Menge ist dann gegeben. Über diesen letzteren Teil von Jappellis Versuchen sind im gegenwärtigen Laboratorium Untersuchungen im Gange.

Mendel und Kleiner[2]) finden im wesentlichen Jappellis Resultate betreffs der Ausscheidung im Harn richtig. Bei subcutanen und intraperitonealen Injektionen finden sie den Rohrzucker teilweise durch die Nieren ausgeschieden, ein Teil wird aber zurückgehalten, und als mittleren Wert dieser Menge geben sie 35 % der injizierten Menge an. Auch diese Verfasser finden bisweilen, jedoch bei weitem nicht immer, eine geringe Glucosurie gleichzeitig mit den Zuckerinjektionen; die gefundenen Glucosemengen sind aber klein, und die analytischen Methoden der Verfasser sind (wie sie selbst bemerken) bei weitem nicht genau genug, um das Vorhandensein einer tatsächlichen Glucosurie festzustellen; es handelt sich vielmehr um eine Inversion des ausgeschiedenen Rohrzuckers nach der Harnlassung (siehe die Bemerkungen dazu unten).

---

[1]) Zit. nach Maly: Jahresber. d. Tierchem. 35, 79, 1905.

[2]) The American Journal of Physiology 26, 396, 1910.

Die Verfasser machen einen vereinzelten Versuch, Invertin im Blute nachzuweisen. Kurz nach der Injektion von zirka 2 g Rohrzucker pro Kilogramm an einem Hunde wird das Tier venenseziert; man untersucht ein Gemisch des ausgeschiedenen Serums und einer Rohrzuckerlösung vor und nach dem Aufenthalt im Thermostaten, wobei sich jedoch keine Spaltung des Rohrzuckers nachweisen läßt.

Heilner[1]) findet gleichfalls bei Versuchen mit Kaninchen, daß diese bei subcutaner Injektion von Rohrzucker nur einen Teil desselben durch die Nieren ausscheiden, kann aber im Gegensatz zu Johansson, Billström und Heijl eine vermehrte CO_2-Ausscheidung durch die Lungen nach den Injektionen nachweisen und schließt daraus, daß sich im Blute Invertin finden muß, was eine durchaus nicht berechtigte Schlußfolgerung ist. Die vermehrte CO_2-Ausscheidung kann auf gar vielen anderen Verhältnissen beruhen und ist ja auch von keinen anderen Untersuchern beobachtet worden. Die Erscheinung, daß ein Teil des Rohrzuckers vom Organismus zurückgehalten und wahrscheinlich von diesem verwertet wird, läßt sich somit sehr wohl in anderer Weise, als durch die Annahme einer Enzymbildung im Blute erklären. Den Ausscheidungskurven des Rohrzuckers im Harn kann man keinen besonderen Wert beilegen, da die Tiere in den zitierten Fällen Albuminurie haben, was, wie wir später sehen werden, die Ausscheidung durch die Nieren vollständig stört.

Hogan[2]) untersucht sowohl die Ausscheidung des Rohrzuckers durch die Nieren bei intraperitonealen Injektionen als auch das Blut daraufhin, ob dadurch im Blut Invertin gebildet worden ist. Das Enzym findet er in keinem Falle, und wenn er bei weitem nicht immer die ganze injizierte Menge Zucker im Harn wiederfindet, schließt er deswegen aus dem negativen Blutbefund, daß dieses von mangelhaften Analysemethoden herrührt, eine Schlußfolgerung, die auch nicht berechtigt ist. Dagegen findet er, mit meinen Versuchen übereinstimmend, daß die Tiere während der Injektionen nie das Vermögen einer besseren Verwertung des injizierten Rohrzuckers gewinnen.

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. 56, 75, 1911.

[2]) Journ. of Biolog. Chem. 18, 485, 1914.

Verfasser macht ferner darauf aufmerksam, daß die Rohrzuckerinjektionen keine Glucosurie hervorrufen und meint, daß die Osazonprobe bei den hier in Frage stehenden Analysen mit großer Vorsicht zu behandeln ist, da während des Kochens leicht eine Spaltung des Rohrzuckers eintreten kann.

S. la Franca[1]) hat ganz vereinzelte Versuche mit Rohrzuckerinjektionen allein angestellt mit dem Ergebnis, daß der größte Teil des intraperitoneal injizierten Zuckers im Harn wiedergefunden werden kann.

Wir sind hiermit bereits bei den Versuchen, die nachweisen sollen, daß sich tatsächlich im Blute bei parenteralen Rohrzuckerinjektionen das Enzym „Invertin" bildet, welche Versuche leicht erklärlich sind, da ein Teil des parenteral eingeführten Rohrzuckers nach den Resultaten mehrerer der oben erwähnten Untersucher, die durch meine Untersuchungen völlig bestätigt werden, vom Organismus zurückgehalten wird.

Haben nun normale Tiere ein solches Enzym im Blute? Nach allen übereinstimmenden Untersuchungen lautet die Antwort: Nein. Bereits Cl. Bernard[2]) hat die Sera von normalen Tieren auf das Vermögen hin, den Rohrzucker zu spalten, untersucht. Er findet bei Seren von Menschen, Hunden und Kaninchen nie eine solche Spaltung.

Zu ganz demselben Resultat kommen Fischer und Niebel[3]). Sie untersuchten 12 verschiedene Tierarten (sowohl homoiotherme als poikilotherme) und finden in keinem Falle ein Rohrzucker spaltendes Serum.

Darüber sind sich also alle, und zwar auch die späteren Untersucher einig: Das Serum von normalen Tieren spaltet keinen Rohrzucker. Damit hört aber auch die Einigkeit auf, indem einige annehmen, daß im Blute Invertin vorhanden sein muß, wenn Rohrzucker subcutan, intravenös oder intraperitoneal injiziert wird, ohne daß sie jedoch das Enzym nachweisen, andere es aber nachgewiesen zu haben meinen, während es wiederum andere gibt, denen ein solcher Nachweis nie gelingen wollte.

[1]) Diese Zeitschr. 67, 232, 1914.

[2]) Leçons sur le diabète sucre.

[3]) Sitzungsber. d. Königl. Akademie der Wissensch. zu Berlin 1, 79, 1896.

Diese Untersuchungen wurden zuerst von Weinland[1]) in Angriff genommen; er untersucht das Blut von zwei jungen Hunden, die längere Zeit hindurch (2 bis 4 Wochen) mit großen subcutanen Rohrzuckerinjektionen (bis 6 g pro Kilogramm) behandelt worden waren, und findet, daß das Blut der beiden Tiere dadurch das Vermögen gewonnen hat, Rohrzucker zu spalten. Gleichzeitig bestimmt er die Ausscheidung durch die Nieren und beobachtet zu Anfang eine fast quantitative Ausscheidung, späterhin aber nur ganz geringe Mengen des injizierten Zuckers. Auf diesen Teil der Versuche darf man jedoch nicht zu viel Gewicht legen, denn erstens ist die Sammlung des Harns bei weitem keine vollständige (worauf Verfasser selbst aufmerksam macht), und zweitens wird gar nicht mitgeteilt, ob der Harn normal ist, was aller Wahrscheinlichkeit nach nicht der Fall ist, da die Nieren vermutlich sehr schnell durch die kolossalen Rohrzuckerinjektionen beschädigt worden sind. Es kann daher nicht wundernehmen, daß die Rohrzuckerausscheidung abnimmt, da nach anderen Forschern und meinen eigenen Untersuchungen die Nieren den Rohrzucker nicht auszuscheiden vermögen, wenn erst eine Albuminurie eingetreten ist.

Das Blut zur Untersuchung auf Invertin hin erhält Verfasser, indem er die Tiere an Verblutung sterben läßt; ob dies bei aseptischen Kautelen geschieht, wird nicht erwähnt. Serum vom Blut wird in gewöhnlicher Weise mit einer Rohrzuckerlösung gemischt, und zum Gemisch wird Toluol hinzugesetzt. Ob eine Spaltung eingetreten ist, wird dadurch bestimmt, ob die Trommersche Probe und die Osazonprobe positiv sind. Dazu ist zu bemerken, daß der Zusatz von Toluol zum Serum-Rohrzuckergemisch auf Bakterien tötend wirkt, daß aber Gärungen dadurch nicht ausgeschlossen sind. Es werden freilich mehrere Kontrollversuche angestellt; ein derartiger Beweis per exclusionem ist immerhin zweifelhaft. Bei einer alkalischen Serum-Rohrzuckermischung erzielt Verfasser keine Spaltung, dagegen wohl, wenn das Gemisch durch Essigsäure schwach sauer gemacht wird. Es wird angegeben, daß diese Neutralisation mittels Lackmuspapier stattfindet; benutzt man dazu aber das gewöhnliche Lackmuspapier, so ist es sehr

[1]) Zeitschr. f. Biol. 47, 279, 1906.

leicht, sogar einen recht großen Überschuß von Säure zuzusetzen, der während des Aufenthaltes im Thermostaten allerdings einen Teil Rohrzucker invertieren kann. Und es liegt denn auch die Möglichkeit vor, daß man eben bei den wenigen Versuchen, von denen hier die Rede ist, in den Kontrollgläsern eine genaue Neutralisation erzielt haben kann, wohingegen in den anderen Proben ein Säureüberschuß vorliegt. Es sei nun, daß diese Betrachtungen in diesem Falle zutreffen oder nicht, so muß man jedenfalls bei derartigen Versuchen verlangen, daß man möglichst aseptisch arbeitet, und ferner, daß man eventuell eintretende Spaltungen quantitativ verfolgt, um sich nicht von ganz kleinen eingetretenen Veränderungen täuschen zu lassen.

Derartige quantitative Methoden sind denn auch nicht schwer zu finden, denn ist in dem Serum-Rohrzuckergemisch nur die geringste Menge Invertin vorhanden, so müssen Titrierung und Polarimetrie vor und nach dem Aufenthalt im Thermostaten große Unterschiede aufweisen, wovon man sich sehr leicht überzeugen kann, wenn man Rohrzucker mit einer Invertinlösung mischt.

Die Versuche, Invertin im Blute von parenteral rohrzuckerbehandelten Tieren nachzuweisen, werden dann, anscheinend unabhängig von der hier zitierten Arbeit von Weinland, von Abderhalden und seinen Schülern aufgenommen.

Im Jahre 1910 veröffentlichen Abderhalden und Brahm[1]) einige Untersuchungen an Hunden, die parenteral mit teilweise recht großen Rohrzuckermengen behandelt worden sind, und können nun in einigen Fällen nachweisen, daß deren Blut das Vermögen gewinnt, Rohrzucker zu hydrolysieren; in anderen Fällen ist der Blutbefund negativ. Die Versuche mit Serum wurden in der Weise ausgeführt, daß ca. 1 ccm Serum mit ca. 1 ccm 10⁰/₀iger Rohrzuckerlösung und 5 ccm 0,9⁰/₀iger NaCl-Lösung gemischt wird. Das Gemisch wird dann in eine Polarisationsröhre (von annehmbar 1 dm) getan, und es zeigt sich nun, daß der Drehungswinkel im Laufe von bis 50 Stunden bald nicht mehr als 0,20°, bald bis um 1° abgeändert wird. Ob das Blut bei aseptischen Kautelen entnommen oder ob ein

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 429, 1910.

Antisepticum zugesetzt worden ist, wird in dieser Abhandlung nicht erwähnt.

Abderhalden und Kapfberger[1]) setzen diese Versuche an Hunden fort und finden nun, daß kleine Mengen Rohrzucker (bei subcutaner Injektion 10 ccm $5^0/_0$ige Zuckerlösung, bei intravenöser Injektion noch weniger, nämlich ca. 2 ccm derselben Lösung) konstant eine Invertinbildung im Blute hervorrufen; sie stellt sich sehr schnell ein und schwindet erst wieder nach ca. 14 Tagen. Die Versuche mit der Serum-Rohrzuckerbehandlung sind in ganz derselben Weise ausgeführt wie obengenannt, aber in den allermeisten Fällen ist die Drehungsabänderung sehr klein, meist im ganzen 0,10°. Es findet sich auch in dieser Abhandlung ein vereinzelter Versuch, die ausgeschiedenen Zuckermengen im Harn zu bestimmen, der Versuch hat aber keine Bedeutung, da die benutzten analytischen Methoden höchst unvollkommen sind.

Kumagai[2]) stellt auch solche Versuche an, kommt aber zu dem Resultat, daß nur eine längere Zeit hindurch fortgesetzte Injektion kleiner Rohrzuckermengen imstande ist, an jungen Hunden regelmäßige Invertinbildung im Blute hervorzurufen. Dagegen kann er nicht in derselben Weise Invertinbildung bei älteren Hunden hervorrufen, findet aber im Gegensatz zu Abderhalden und Kapfberger, daß man große Mengen Zucker auf einmal injizieren und dann eine Zeitlang warten muß (wie lange, gibt er nicht an), bevor das Invertin sich einstellt. Auf den übrigen Teil von Kumagais Versuch werde ich nicht eingehen, da es mir nie gelungen ist, ein sogenanntes Rohrzuckerimmunserum herzustellen und ich somit auch nie Gelegenheit gehabt habe, die Wirkungen eines solchen Serums gegenüber anderen Zuckerarten zu untersuchen, welche Wirkungen nach Kumagai höchst merkwürdig sein sollen. Ebensowenig habe ich jemals die von Kumagai besprochene Erscheinung beobachtet, daß der Harn während der Rohrzuckerinjektionen sehr stark linksdrehend wird.

Auch Kumagai benutzt die polarimetrische Untersuchung des Rohrzucker-Serumgemisches, und die Drehungsabänderungen

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 69, 23, 1910.

[2]) Diese Zeitschr. 57, 380, 1913.

sind teilweise ganz kolossal. Es wird Toluol zum Gemisch zugesetzt; es wird aber allem Anschein nach nicht aseptisch gearbeitet.

Danach veröffentlichen Abderhalden und Wildermuth[1]) eine Versuchsreihe an 24 Kaninchen, die nach der angeführten Methode von Abderhalden mit Injektionen von kleinen Rohrzuckermengen behandelt werden; es findet sich in allen Fällen, mit einer Ausnahme, Invertin im Blute. Die Versuchsmethode ist jetzt etwas abgeändert worden, indem ganz kleine Polarisationsröhren angewandt werden, die nur ca. 2 ccm fassen. Es wird in einem späteren Aufsatz in derselben Zeitschrift mitgeteilt, daß stets mit der strengsten Asepsis gearbeitet worden ist; jedoch scheint kein Antisepticum zugesetzt worden zu sein. Die Drehungsabänderungen sind meist ganz klein, ca. 0,20°. Es ist interessant, daß die Verfasser durchaus die sonderbaren Wirkungen nicht bestätigen können, die solche „Rohrzuckerimmunsera" nach Kumagai auf andere Zuckerarten ausüben sollten.

Abderhalden und Grigorescu[2]) stellen neue Versuche mit (erwachsenen) Hunden an, finden nun aber, daß die Invertinbildung bei weitem nicht so regelmäßig auftritt wie früher angenommen. Sie finden im Gegenteil jetzt, daß das Invertin mitunter erst nach wiederholten Injektionen kleiner Rohrzuckermengen und bisweilen gar nicht auftritt. Die Ursache davon, sowie von der Übereinstimmung mit Abderhaldens früheren Versuchen lassen sie dahingestellt sein; sie führen nur die Hypothese an, daß die Anpassung an Rohrzucker in der täglichen Kost vielleicht eine Rolle spielt, welche Annahme sich durchaus nicht durch meine Versuche bestätigen läßt.

Abderhalden widmet in der letzten Ausgabe der „Abwehrfermente" 1914 dieser ganzen umstrittenen Frage nur wenige Seiten. Er beschränkt sich darauf zu sagen, daß das Blut eines Hundes, dem man etwas Rohrzucker injiziert, im allgemeinen kurz nach der Injektion Invertin enthalten wird, das man durch die Drehungsabänderung in einem Gemisch von $^1/_2$ ccm Serum, $^1/_2$ ccm $5\,^0/_0$iger Rohrzuckerlösung und 7 ccm

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **90**, 388, 1914.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **90**, 419, 1914.

physiologischer Kochsalzlösung nachweisen kann. Das Enzym sollte sich auch danach ca. 14 Tage lang im Blut erhalten.

Röhmann[1]) setzt Kumagais frühere Untersuchungen fort. Es verhält sich ja im wesentlichen so, daß Abderhalden behauptete, daß eine einzelne oder allenfalls einige wenige Rohrzuckerinjektionen in den meisten Fällen Invertin erzeugten, während nach Kumagai nur eine einzelne oder einzelne größere Injektionen nach einigen Tagen mit Sicherheit dazu imstande wären. Röhmann kann nun Kumagais Behauptung durch seine Versuche an vier Hunden nicht bestätigen. Bei dem einen von diesen Tieren gelang es überhaupt nicht, Invertin nachzuweisen, bei den drei anderen nur ab und zu während einer längeren Versuchsperiode. Von 27 Kaninchen enthielten 16 Invertin, nachdem ihnen an drei aufeinander folgenden Tagen bis 8 g Rohrzucker täglich injiziert worden waren; das Enzym stellte sich nach einer schwankenden Anzahl von Tagen ein, mitunter sofort nach der letzten Injektion, mitunter erst später. Die Untersuchung auf Invertin findet in der Weise statt, daß $^1/_2$ ccm Serum mit $^1/_2$ ccm $10^0/_0$iger Rohrzuckerlösung und 9 ccm Wasser und 1 Tropfen Toluol gemischt wird. Nach dem Aufenthalt im Thermostaten wird mit Natriumacetat und Eisenchloridlösung gefällt, welche Mischung filtriert und in einer Röhre von 1 dm polarisiert wird.

Röhmann findet also in vielen Fällen nach Rohrzuckerinjektionen Invertin im Blute, kann aber keine sichere Methode zu dessen Herstellung angeben. Auf die übrigen Abschnitte von Röhmanns Versuchen kann ich mich ebensowenig wie auf diejenigen von Kumagai einlassen; auch den Harnbefund kann ich nicht bestätigen; in keinem Falle fand ich, wenn reichliches Antisepticum zum Harn hinzugesetzt worden war und die Reaktion desselben den Tag hindurch ganz schwach sauer oder neutral erhalten wurde, durch Titrierung nach Bangs Methode irgendwelche Reduktion; es kann also weder Glucose, Fructose, Galactose noch Lactose vorhanden gewesen sein.

Es würde von größtem Interesse sein, wenn auch andere Forscher derartige Versuche mit einwandfreier Technik in An-

---

[1]) Diese Zeitschr. 72, 26, 1915.

griff nehmen und eine Methode angeben würden, mit der man mit Sicherheit Invertin im Blute erzeugen kann, und gleichzeitig durch ein solches Serum Röhmanns und Kumagais sonderbare Resultate anderen Zuckerarten gegenüber bestätigen würden.

Es scheint mir, daß Röhmann in seinem letzten Aufsatz in den meisten Fällen die Identifizierung der Zuckerarten etwas zu leicht abgefertigt hat. So werden die Osazone ausschließlich durch ihr mikroskopisches Aussehen identifiziert. Dies scheint mir zu wenig. Es sollte jedenfalls eine Schmelzpunktbestimmung stattfinden, ja am besten wäre es, das hergestellte Osazon mit einem sicherlich reinen Osazon der supponierten Zuckerart zu vermischen und dann zu untersuchen, ob der Schmelzpunkt dadurch verändert wird.

Verfasser sagt selbst, daß ein längeres Kochen einer Rohrzuckerlösung mit essigsaurem Phenylhydrazin eine Spaltung des Rohrzuckers bewirken kann. Dies ist sicher genug; wenn es sich aber so verhält, wäre es dann nicht am besten, diese Probe, wo es sich um den Nachweis von Glucose oder Fructose neben Rohrzucker handelt, ganz zu verwerfen?

Es scheint mir überflüssig, sich mit einer rein theoretischen Kritik näher auf diese Angelegenheit einzulassen, da sich viele der Fragen, die man dabei zu besprechen hat, nur durch persönliche Erfahrung lösen lassen.

Meine eigenen Versuche begann ich vor ca. $1^1/_2$ Jahren, indem ich beabsichtigte, das Geschick verschiedener Zuckerarten im Organismus durch die von V. Henriques und A. C. Andersen[1]) beschriebene permanent intravenöse Injektionsmethode zu untersuchen. Man sollte a priori glauben, daß man durch diese Methode leichter als durch irgendwelche andere eine Anpassung an körperfremde Stoffe sollte hervorrufen können, wenn eine solche sich überhaupt hervorrufen läßt.

Durch Injektion von Rohrzucker und Untersuchung des Harns von Tag zu Tag kam ich sehr bald zu dem Resultat, daß verhältnismäßig große Mengen im Organismus zurückgehalten werden können, ohne daß sich übrigens nach dem Harnbefund behaupten läßt, daß eine Anpassung stattgefunden hat. Die ausgeschiedene Zuckerart war stets Rohrzucker. Unter

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 88, 357, 1913.

diesen Umständen war also die Analyse des Harns nicht hinreichend; es mußte auch das Blut untersucht werden, um festzustellen, ob dieses ein Rohrzucker spaltendes Enzym enthalte und also die Retention bedinge; denn das hatten ja frühere Untersucher, um die Retention zu erklären, behauptet.

Indessen ist ja gar nicht ausgeschlossen, daß das Blut gar kein Invertin enthält, wenn auch der Organismus einen Teil des Rohrzuckers zurückhält und wahrscheinlich verwertet; denn es gibt ja andere Stellen im Körper, wo eine solche Verbrennung ebenso natürlich von statten gehen könnte.

Ein fortwährender Vergleich der Harnanalysen und des Blutbefundes scheint mir daher richtige und einander in ausgezeichneter Weise ergänzende Aufschlüsse ergeben zu müssen. Findet man z. B., daß der Rohrzuckerprozentsatz des Harns fortwährend abnimmt, wenn täglich dieselben Mengen injiziert werden, so darf man annehmen, daß der Organismus jetzt ein Vermögen gewonnen hat, das er vielleicht früher nicht besaß. Von diesem Befund allein aus aber schließen zu wollen, daß im Blut Invertin gebildet worden ist, wäre nicht berechtigt. Wie aus meinen Versuchen hervorgeht, sieht man nie eine solche Abnahme des Zuckerprozentsatzes des Harns (außer bei Albumin im Harn); dennoch habe ich in den meisten Fällen das Blut auf Invertin hin untersucht.

Wenn die Nieren beschädigt werden, nimmt der Rohrzuckerprozentsatz des Harns sofort ab; dies bedeutet ja aber nur, daß der Organismus sich in ganz abnormen Verhältnissen befindet.

Daß es so viele, sich widersprechende Angaben über die Rohrzuckerausscheidung gibt, scheint mir zunächst in folgender Weise erklärlich: teils sind viele der diesbezüglichen Untersuchungen mit mangelhafter Technik und mangelhaften Analysemethoden ausgeführt worden, und teils scheint für verschiedene Tierarten, ja vielleicht sogar für jedes einzelne Individuum die Nierenausscheidung irgendwie begrenzt zu sein. Bei Überschreitung dieser Grenze werden die Nieren beschädigt. Aus meinen wenigen Versuchen mit Injektion von kleinen Rohrzuckermengen scheint hervorzugehen, daß der Organismus unter solchen Verhältnissen bedeutend geringere Mengen zurückhält als bei Injektion von großen Gaben, ohne daß ich im übrigen

auf Grund des vorliegenden Materials bestimmtere Ansichten über diese Frage auszusprechen wage. Vielleicht kann man dadurch, in Verbindung mit den oben angeführten Analyseschwierigkeiten, Voits Resultate erklären, indem dieser Forscher nur eine einzelne Injektion verhältnismäßig kleiner Mengen anwendet.

Was die Harnanalysen betrifft, kam es mir darauf an, eine verhältnismäßig leicht ausführbare, aber gleichzeitig zuverlässige Methode zu finden, um den Gehalt des Harns an Rohrzucker neben anderen etwa gleichzeitig vorhandenen Zuckerarten feststellen zu können. Eine Kombination von Reduktion und Polarimetrie schien mir das beste Verfahren zu sein. Die Schwierigkeit bestand nun in dem Auffinden eines Titrierungsverfahrens, wodurch jede Möglichkeit einer Spaltung des Rohrzuckers ausgeschlossen wäre. Ein solches Verfahren fand ich in Bangs Hydroxylaminmethode. Es bot sich noch eine andere Schwierigkeit dar, indem man vielleicht erwarten könnte, daß der Rohrzucker im Organismus invertierte und als Invertzucker ausgeschieden würde; darüber würde aber die genannte Kombination, bei positivem Resultat der Titrierung, keinen Aufschluß geben. A priori war eine solche Ausscheidung von Invertzucker im Harn nicht sehr wahrscheinlich, und es hat sich denn auch durch Versuche in gegenwärtigem Laboratorium herausgestellt, daß sogar große Mengen von permanent intravenös injiziertem Invertzucker, praktisch betrachtet, quantitativ ganz verwertet werden. Meine eigenen Versuche zeigten denn auch, wenn gewisse Maßregeln getroffen wurden, niemals eine Reduktion.

Was die Versuche betrifft, durch die ich zu dieser Kombination gelangte, beschränke ich mich auf eine Besprechung von ein paar Verhältnissen, die mir von Interesse zu sein scheinen.

Bang gibt an, daß 50 ccm Kupferlösung 50 ccm Hydroxylaminlösung in kaltem und unverdünntem Zustande entsprechen sollen. Stellt man die Titrierflüssigkeiten derart ein, so kann man sicherlich einen Fehler begehen, wenn es darauf ankommt, genau zu bestimmen, ob eine vorliegende Flüssigkeit Reduktion ergibt oder nicht. Es zeigt sich nämlich, daß man, wenn man 50 ccm Kupferlösung mit 10 ccm destilliertem Wasser in der Weise kocht, wie es zur vollständigen Entfärbung

geschieht, wenn es sich um Harn handelt, nicht 50 ccm Hydroxylaminlösung gebraucht; die Menge kann bis auf 49,50 ccm, ja sogar bis auf 49,00 ccm abnehmen, was bereits früher von A. C. Andersen[1]) hervorgehoben worden ist.

Eine andere, jedem Reduktionsverfahren anhaftende Unannehmlichkeit ist es, daß jeder normale Harn reduziert, welche Reduktion bei der Bangschen Methode von Bang und seinen Schülern selbst zu ca. 0,24 % als Glucose berechnet angesetzt wird, welche Angabe ich durchaus bestätigen kann.

Dieses „normale Reduktionsvermögen“ des Harns vermeidet man indessen bei allen den Tieren, mit denen ich Versuche angestellt habe, durch die Fällung mit Merkurinitrat, die A. C. Andersen in der vorgenannten Arbeit beschrieben hat. Er gewinnt dadurch einen ganz klaren Harn, der in allen meinen Fällen eine Reduktion = 0 ergab.

Wenn man also unter den genannten Bedingungen fortwährend das Reduktionsvermögen des Harns kontrolliert und den Drehungswinkel polarimetrisch bestimmt, erhält man einen Ausdruck für den Gehalt an Rohrzucker.

Um zu zeigen, daß der Rohrzucker nicht durch Titrierung nach Bang gespalten wird, und daß das Vorhandensein dieser Zuckerart die Bestimmung anderer vorhandenen Zuckerarten nicht unmöglich machte noch beeinflußte, stellte ich einige Versuche an, von denen ich nur einen einzelnen anführe, um zu zeigen, wie genau man den Zuckergehalt bestimmen kann.

Es wurden 2 Mischungen hergestellt: I und II. I bestand aus 10 ccm einer 10,00 %igen Rohrzuckerlösung, 5 ccm einer 4,31 %igen Glucoselösung und Harn ad 100 ccm.

II bestand aus 15 ccm destilliertem Wasser und demselben Harn wie bei I ad 100 ccm.

II. Die Reduktion durch Bangs Titrierung bestimmt = 0,235 %, als Glucose berechnet.

I. Reduktion in derselben Weise bestimmt = 0,455 %. Demgemäß ist der gefundene Glucosegehalt = 0,22 %. Der tatsächliche Glucosegehalt betrug 0,215 %. Die Mischungen I und II werden in der erwähnten Weise mit Merkurinitrat gefällt. Danach ergab sich bei der Bangschen Titrierung für I

[1]) Compt. rend. des trav. du lab. de Carlsberg 7, 1909.

eine Reduktion = 0,22 %, für II eine Reduktion = 0, Drehungswinkel = 0.

Die polarimetrische Bestimmung ergab für I nach Fällung mit dem Merkurinitrat einen Drehungswinkel = 0^{0} 77′. Der Harn ist im Verhältnis 1 : 2 verdünnt; also soll der genannte Wert mit 2 multipliziert und der dem Glucoseprozentsatz entsprechende Drehungswinkel abgezogen werden, also 0^{0} 65′ × 2 = 1^{0} 30′.

Es ergibt sich mithin ein Gehalt von 0,98 % Rohrzucker. Der tatsächliche Gehalt betrug 1,00 %. Eine größere Genauigkeit erstrebte ich bei diesen Versuchen nicht. Diese Versuche wurden mit Menschenharn ausgeführt, dessen Drehungswinkel nach der Fällung = 0 war; aber so glücklich liegt die Sache nicht immer, denn der Harn von vielen Tieren ist nach der Fällung recht stark linksdrehend; es kann aber immer durch eine hinreichend lange Vor- und Nachperiode, in der das Tier nur eine Instillation einer 0,9 %igen NaCl-Lösung, im übrigen aber dasselbe Futter erhält wie während des Versuches, gelingen, einen konstanten Wert dieser Drehung zu finden, der dann selbstverständlich berücksichtigt werden muß.

Daß die derart bestimmten Werte des Zuckergehalts im Harn nur Rohrzuckerwerte sein können, läßt sich wohl kaum bezweifeln; größerer Sicherheit halber habe ich dennoch ab und zu Stichproben entnommen, die ich in gewöhnlicher Weise invertierte und deren Zuckergehalt ich bestimmte. Ich fand dann immer eine schöne Übereinstimmung mit den in anderer Weise gefundenen Werten. Diese Bestimmungen habe ich hier nicht mit herangezogen, da sie zu viel Raum in Anspruch nehmen würden.

Die Aufbewahrung des Harns verursachte mir anfangs einige Schwierigkeiten. War der Harn stark sauer, trat im Laufe von 24 Stunden eine Inversion ein; namentlich war diese Inversion recht groß, wenn der Harn späterer Untersuchung wegen in dem warmen Laboratorium aufbewahrt wurde; ich fand dann eine entsprechende Glucosurie, wie andere sie bei Rohrzuckerinjektionen nachgewiesen zu haben meinen. Es muß hinzugefügt werden, daß ich immer reichliche Mengen Toluol zum Harn zusetzte.

Es ist auch möglich, daß es sich um eine Inversion durch

Gärungsorganismen handelte, die es sehr schwer ist, in einem Laboratorium, wo mit Zuckeranalysen gearbeitet wird, zu verhüten.

Indessen gelang es mir, diese Unannehmlichkeit zu vermeiden, indem ich fortwährend den ganzen Tag hindurch darauf achtete, daß der Harn ganz schwach sauer oder ungefähr neutral war, und indem ich nimmer den Harn bis zum nächsten Tag stehen ließ, sondern ihn an demselben Tag untersuchte, an dem er dem Tier entnommen worden war.

Ich glaube also nicht, daß die von früheren Untersuchern besprochene Glucosurie bei Zuckerinjektionen tatsächlich vorhanden ist, sondern daß die gefundenen kleinen Glucosemengen von einer Inversion herrühren, die irgendwie in dem gelassenen Harn entstanden ist.

Eigene Untersuchungen.

Das Blut wurde stets so aseptisch wie irgend möglich entleert und stets durch Venenpunktur; es wurde in sterile Gläser aufgenommen und sofort zur freiwilligen Koagulation in den Eisschrank gebracht. Eine Zentrifugierung war in den meisten Fällen nicht notwendig, und ich habe überhaupt das Zentrifugieren vermieden, denn die Sterilität wird dadurch gefährdet, indem die Wattestöpsel z. B. leicht ins Blut hinabgeschleudert werden. Das ausgeschiedene Serum wird mit sterilen Pipetten abpipettiert und mit der sterilen Zuckerlösung in gleichfalls sterilen Kolben gemischt. Die Proben zur Untersuchung werden mit sterilen Pipetten entnommen. Größerer Sicherheit halber wird vor der Unterbringung im Thermostaten Toluol zugesetzt (inwieweit, ist bei den einzelnen Versuchen angegeben). Der Thermostat ist auf 37° reguliert, und um womöglich eine Verdampfung während des Aufenthalts darin zu vermeiden, wurde über dem Wattestöpsel des Kolbenhalses ein Stanniolverschluß angebracht. Ich brauche wohl nicht hinzuzufügen, daß die entnommenen Proben stets nach Abkühlung auf Zimmertemperatur abgemessen wurden.

In den meisten Fällen benutzte ich Makromethoden zur Untersuchung der Rohrzuckerserummischung: 25 ccm der Mischung wurden abpipettiert, mit Wasser bis zu 50 ccm verdünnt, mit dem Merkurinitrat gefällt und mit Zinkstaub von

Quecksilber befreit, wie beim Harn angegeben. In der Weise wird die Mischung im Verhältnis 1 : 4 verdünnt; darauf wird an der klaren Lösung eine Titrierung mit Bangs Kupfer und Hydroxylamin und eine polarimetrische Bestimmung unternommen. Zu letzterer benutzte ich stets eine Röhre von 2 dm und wie beim Harn einen gewöhnlichen Halbschatten-Apparat, an dem man Minuten ablesen kann. Ergibt sich nach dem Aufenthalt im Thermostaten keine Abänderung des Titrierungs- und Polarisationsresultates, so ist es sicher, daß im Serum kein Enzym vorhanden war.

Um die von anderen benutzten Methoden zu probieren, habe ich mitunter kleinere Mengen von Serum und Rohrzucker ($^1/_2$ ccm von jedem) vermischt und in eine 1 dm-Polarisationsröhre mit physiologischer Kochsalzlösung eingefüllt und den Drehungswinkel vor und nach dem Aufenthalt im Thermostaten bestimmt. Dies ist nicht immer leicht, denn um überhaupt eine solche Mischung polarisieren zu können, ist es notwendig, daß das Serum rein gelb ist, wenn die Einstellungen genau sein sollen. Auch in diesen Fällen wurden ein paar Tropfen Toluol zugesetzt.

Schließlich verschaffte ich mir, um auch mit derselben Technik zu arbeiten wie Abderhalden in seinen späteren Arbeiten, seine ca. 2 cm langen und ca. 2 ccm fassenden Polarisationsröhren und mischte darin in der Regel gleich große Teile von Rohrzucker und Serum. Ich sterilisierte diese Röhren, indem ich sie längere Zeit hindurch in einer ca. $10^0/_0$igen Formaldehydlösung liegen ließ. Wenn sie gebraucht werden sollten, nahm ich sie mit sterilen Pinzetten auf und spülte sie vielmals mit einer $0{,}9^0/_0$igen NaCl-Lösung, bis jede Spur von Formaldehyd verschwunden war. Zur Lösung in den Röhren setzte ich einen Tropfen Toluol zu, was die Einstellungen im Polarisationsapparat keineswegs behinderte. Vor der Arbeit mit diesem Apparat wurde selbstredend immer auf Zimmertemperatur abgekühlt.

Es zeigte sich, daß die Polarisation mit diesen kleinen Röhren nicht schwierig war und ausgezeichnete Resultate ergab. Die Klarheit des Gesichtsfeldes wurde nicht sehr groß, aber eben diese kleinen Lichtmengen gestatteten mir jedenfalls, mit großer Genauigkeit abzulesen. Ich brauche wohl kaum hinzuzufügen,

daß ich vor einer Ablesung bei diesen vergleichenden Versuchen nie im voraus wußte, wie das Resultat das vorige Mal gewesen war, so daß jede Möglichkeit einer Suggestion ausgeschlossen ist. Ich stellte immer wenigstens 10 Ablesungen an, und in der Regel wichen diese nur um 1 Minute, ein vereinzeltes Mal um 2 Minuten voneinander ab.

Abderhalden[1]) sagt von der optischen Methode: „Die größte Fehlerquelle liegt im Beobachter selbst. Das Auge ermüdet bald. Man kann nicht zu viele Ablesungen auf einmal ausführen. Man muß sich so einüben, daß man schließlich für die einzelne Bestimmung höchstens 30 Sekunden braucht. Sobald das Auge ermüdet, so wird die Ablesung unsicher. Man befasse sich nicht mit der optischen Methode, ehe man nicht über eine genügende Sicherheit in den Ablesungen verfügt!"

Das scheint mir eine außerordentlich gefährliche Methode zu sein! Im Gegenteil ist meine Erfahrung nach einer zweijährigen, täglichen Arbeit mit dem Polarisationsapparat eine ganz andere: Die erste oder die ersten Ablesungen sind sehr oft ganz verkehrt und weichen oft sogar $0^{0}\,10'$ von den übrigen ab. Ich wurde sehr früh darauf aufmerksam, und ich machte dann mit Zuckerlösungen Versuche, deren Stärke in anderer Weise bestimmt worden war. Es stellte sich nun oft das genannte Verhältnis ein, und zwar namentlich, wenn ich einige Zeit lang bei dem starken elektrischen Licht gearbeitet hatte, das man heutzutage in den meisten Laboratorien hat. Erst wenn das Auge sich an das schwache monochromatische Licht des Polarisationsapparates gewöhnt hatte, erhielt ich richtige Resultate, und diese Anpassung findet bei mir stets im Laufe von einer oder von ein paar Einstellungen oder Ablesungen statt. Ich verfuhr nun stets in der Weise, daß ich bei zu großem Unterschied zwischen den ersten und den späteren Werten die zehn ersten Ablesungen verwarf und darauf 10- oder 20 mal mehr anstellte; von einer Ermüdung oder Ungenauigkeit der Einstellungen wird nie die Rede sein, wenn man nur dafür sorgt, daß die Lampe, mit der die Ablesungen geschehen, nicht so stark ist, daß sie das Auge blendet. Daher benutzte ich stets eine gewöhnliche kleine elektrische Taschenlaterne mit etwas

---

[1]) Abwehrfermente, 2. Aufl., 1913.

abgenutzter Batterie, so daß sie die eben notwendige Lichtmenge abgibt. Ganz ähnliche Beobachtungen, glaube ich, werden die meisten anderen Untersucher auch gemacht haben, die sich mit der optischen Methode beschäftigten.

Abderhaldens kleine Polarisationsröhren haben sich auch als praktisch bewährt, wo es sich um die Untersuchung des Blutes kleinerer Tiere, z. B. des Kaninchens, handelt, indem bei diesen Tieren ja nur beschränkte Mengen Blut entleert werden können. Indessen möchte ich auch, wie früher erwähnt, bei diesen gleichzeitig eine Titrierung haben; denn eine geringe Drehungsabänderung könnte ja durch das etwaige Auftreten anderer optisch wirksamer Stoffe maskiert werden.

Dafür scheint mir Bangs[1]) Mikromethode zur Bestimmung des Zuckergehalts im Blute ausgezeichnet zu passen, jedoch nicht in der ursprünglichen Gestalt, denn die stark saure, kochende, gesättigte KCl-Lösung würde natürlicherweise eine unberechenbare Inversion des Rohrzuckers hervorrufen.

Nach verschiedenen Versuchen im gegenwärtigen Laboratorium ist es mir gelungen, die Methode derart zu modifizieren, daß eine solche Inversion nicht stattfindet. Man entfernt die Säure und benutzt ausschließlich die gesättigte KCl-Lösung; diese wird in kaltem Zustande auf das Filtrierpapier gegossen, in dem sich die abgewogene Menge der Serum-Rohrzuckermischung findet. Dann kommt es darauf an, die Proteinstoffe mittels eines Stoffes zu entfernen, der die weitere Bestimmung nicht hindert. Dazu eignet sich eine gesättigte Lösung von Uranacetat. Von dieser Lösung werden 4 Tropfen hinzugetröpfelt. Die Proteinstoffe werden dadurch gefällt und können durch ein kleines Filter abfiltriert werden. Man wäscht darauf in gewöhnlicher Weise und verfährt ganz wie von Bang beschrieben. Die Methode ist leicht ausführbar und besitzt den Vorteil, daß sogar die geringste Menge Invertzucker große Veränderungen des Titrierungsresultates ergeben muß.

Die meisten von den Tieren, die zu den permanenten Rohrzuckerinjektionen benutzt wurden, hielten sich in unseren gewöhnlichen Kisten auf. Bei einzelnen von ihnen mußte ich besondere Vorkehrungen treffen; diese werden bei den einzelnen Versuchen erwähnt werden. Die größten Schwierigkeiten ver-

[1]) Bang, Der Blutzucker, S. 20, 1913.

ursachten die Hunde. Wenn diese in einem verhältnismäßig engen Raum gebunden stehen sollen, werden sie so unruhig und unregierlich, daß man den Versuch aufgeben muß. Es wurden daher besondere viereckige deckellose Kisten von ca. 100 × 60 cm Bodenfläche konstruiert, deren innere Seiten und Boden mit Zink bekleidet waren. Der Boden fiel von allen Seiten her gegen ein Loch in der Mitte oder in der einen Ecke ab, von wo aus eine Ablaufröhre in eine Sammelflasche unter dem Boden der Kiste hinabführte. Über der Kiste wurde ein Galgen angebracht, der so hoch war, daß die Tiere eine daran mit Kugellagern aufgehängte Instillationsflasche nicht erreichen konnten. Von dieser aus wurden, wie gewöhnlich, Gummischläuche zur Kanüle im Halse hinabgeführt. Die in Kugellagern aufgehängte Flasche war sehr beweglich und reagierte auf alle Bewegungen des Tieres. Unter diesen Verhältnissen schienen die Tiere sich wohl zu befinden.

Der schwache Punkt ist der zur Kanüle hinunterführende Schlauch, und es kam auch wiederholentlich vor, daß die Hunde den Schlauch zerbissen; aber durch Dressur gelang es meist, ihnen diese Unart, wie auch die bei mehreren von ihnen vorkommende Gewohnheit, über die Seiten der Kiste hinauszuspringen, abzugewöhnen. Einzelne Hunde war es jedoch unmöglich zu dressieren.

Eine Vermischung mit den Fäzes fand so gut wie nie statt. Die Tiere wählten sich sehr bald eine bestimmte Stelle im Kasten, wo sie den Kot deponierten, und die trockenen Exkremente wurden dann leicht entfernt, ohne irgendwelche Spur zu hinterlassen. Ein paarmal täglich wurden die Seiten und der Boden der Kiste mit ein wenig Wasser gespült, das sich mit dem Harn vermischte. Da diese Wassermenge nicht gemessen wurde, kann man nicht mit Sicherheit sagen, daß es immer genau dieselbe Menge war, und man kann sich deshalb auf die Zuckerprozentsätze im Harn bei diesen Versuchen nicht völlig verlassen. Schließlich wurde die ganze Kiste einmal täglich mit Wasser gereinigt, das nicht mit dem Harn vermischt wurde. Dies geschah unmittelbar nach der Wechselzeit 1 Uhr nachmittags, und das Spülwasser enthielt keinen Zucker.

Mein Versuchsmaterial umfaßt 8 Kaninchen, 5 Ziegenböcke, 4 Hunde, 1 Schaf und 1 Ferkel.

Wegen technischer Schwierigkeiten konnten einige Versuche mit Hunden und Kaninchen, sowie einzelne Versuche mit Puten nicht durchgeführt werden und sind deshalb hier unberücksichtigt geblieben. Mitunter gelang es mir doch, nach einzelnen Rohrzuckerinjektionen auch das Blut dieser Versuchstiere zu untersuchen, und es zeigte sich immer, daß es kein Invertin enthielt.

Ein Teil der hier erwähnten Tiere wurde mit kürzeren oder längeren Zwischenräumen zu mehreren Versuchen herangezogen. Die Kaninchen wurden teils mit kürzeren oder längeren intravenösen Injektionen, teils mit subcutanen Injektionen kleiner Mengen ohne gleichzeitige Bestimmung des Zuckergehalts des Harns, teils mit wiederholten intravenösen Injektionen großer Mengen bei gleichzeitiger quantitativer Ansammlung und Analyse des Harns behandelt. Im allgemeinen sieht man den Rohrzuckergehalt des Harns sofort nach der ersten Injektion bis zu einer Höhe ansteigen, wo er sich danach einigermaßen konstant erhält. Ein einzelner Harn wies sogar am 5. Injektionstag eine Zunahme des Zuckerprozentsatzes auf. Bei Kaninchen f liegt ein recht eigentümliches Verhältnis vor, indem nach Aufhören der Injektionen ein paar Tage hindurch ein zuckerfreier Harn ausgeschieden wird, worauf wiederum an ein paar Tagen Rohrzuckerausscheidung vorliegt. Das Tier scheint also einen Teil des injizierten Rohrzuckers aufbewahren und später nach Zeit und Gelegenheit ausscheiden zu können. Es wurde in diesem Falle keine Albuminurie festgestellt.

Kaninchen o vermag einen Harn mit sehr großem Zuckergehalt auszuscheiden und hält denn auch nur ca. 5 $^0/_0$ der ininjizierten Menge zurück.

Mit den Ziegenböcken wurden zum großen Teil längere Zeit hindurch auf einmal Versuche angestellt; sie wurden behandelt teils mit kleinen intravenösen oder subcutanen Gaben, worauf Untersuchung auf Invertin stattfand, teils späterhin mit großen Gaben, worauf wieder auf Invertin gefahndet wurde. Bei einem einzelnen fanden auch intravenöse Injektionen von Invertzuckerlösung statt, die jedoch keinen positiven Blutbefund ergaben.

Andere werden mit permanentem Einlauf von konstanten oder zunehmenden Rohrzuckermengen aufgestellt. Der Zucker-

prozentsatz des Harns ist teilweise zunehmend, nimmt aber ab, sobald der Harn Albumin enthält. Ein Ziegenbock, der bei allen Anzeichen einer Nephritis starb, enthielt ein gut Teil Ascitesflüssigkeit mit Rohrzuckergehalt, was in hohem Grade bemerkenswert ist. Einer der Ziegenböcke erhielt ganz kolossale Gaben, im ganzen ca. 1600 g, Blutbefund aber ÷ Invertin. Derselbe Bock erhielt über einen Monat hindurch 50 g Rohrzucker täglich per os, um zu untersuchen, ob die Anpassung an Rohrzucker in der Nahrung eine Rolle spielt, jedoch ohne Resultat; das Blut ist nach einer einzelnen größeren intravenösen Injektion frei von Invertin.

Das Schaf erhielt längere Zeit hindurch mehrere kleine subcutane Injektionen. Die Serum-Rohrzuckermischung ergibt nun nach dem Aufenthalt im Thermostaten eine Andeutung einer Vermehrung der reduzierenden Bestandteile, die aber so klein ist, daß man daraus nichts schließen darf. Die Polarimetrie ergab die ganze Zeit hindurch denselben Drehungswinkel. Später wieder kleine und große subcutane Injektionen. Darauf wieder eine ganz kleine Vermehrung der reduzierenden Stoffe der Rohrzucker-Serum-Mischung, die jedoch auch hier so klein war, daß man nichts daraus schließen konnte. Auch hier ist der Drehungswinkel unverändert. Darauf fand permanenter Einlauf statt, während dessen der Prozentsatz des Zuckers im Harn erst zunahm, sich darauf aber ungefähr konstant auf derselben Höhe hielt.

Das Ferkel wurde erst mit einigen einzelnen kleinen Injektionen und einer größeren subcutanen Injektion behandelt. Blutbefund ÷ Invertin. Darauf permanenter Einlauf großer Gaben, während dessen die ganze Menge wieder mit dem Harn ausgeschieden wurde.

Die Hunde erhielten teils subcutane, teils intravenöse Injektionen, teils wurden sie bei permanentem Einlauf größerer Rohrzuckermengen (1 bis $1^1/_2$ g pro Kilogramm) aufgestellt, und derselbe Hund wurde mitunter mit Unterbrechungen mehrmals behandelt. Bei einem der Hunde sieht man den Drehungswinkel der Rohrzucker-Serum-Mischung während des Aufenthaltes im Thermostaten etwas größer werden; es liegt aber keine Veränderung des Reduktionsvermögens der Mischung vor. Ein anderer der Hunde weist das eigentümliche Verhältnis auf, daß

der Rohrzuckerprozentsatz des Harns, obschon dieser kein Albumin enthielt, vor dem Aufhören der Injektionen fiel; obwohl man also hier erwarten könnte, daß eine Anpassung stattgefunden hätte, fand sich doch kein Invertin im Blute, und die Erklärung ist wohl zunächst darin zu suchen, daß, trotzdem man durch chemische Mittel keine Beschädigung der Nieren feststellen konnte, dennoch eine solche eingetreten war.

Wie man sehen wird, habe ich die Tiere auf viele verschiedene Weisen behandelt, um womöglich eine Anpassung an diesen blutfremden Stoff zu erzielen, ohne daß es mir doch je gelang, eine solche Anpassung zu beobachten. Ich arbeitete in so vielen verschiedenen Weisen, weil keiner der Untersucher, die sich früher mit diesem Thema beschäftigten, eine sichere Methode zur Hervorrufung von Invertinbildung im Blute hat angeben können. Während diese Forscher ab und zu eine, wie es scheint, unzweifelhafte Wirksamkeit des Blutes parenteral behandelter Tiere gegenüber einer Rohrzuckerlösung beobachtet haben, habe ich nie ein solches Serum herstellen können, und sehr merkwürdig scheint es mir, daß es einen solchen Unterschied zwischen Individuen derselben Art geben sollte, daß das eine Individuum ein Abwehrferment zu bilden vermag, das andere aber nicht, obschon sie in derselben Weise behandelt werden; es ist ja aber möglich, daß ich nicht die rechte Methode habe finden können.

Man muß sich jedoch erinnern, daß ich nicht der einzige bin, der Weinlands, Abderhaldens und Röhmanns diesbezügliche Angaben nicht hat bestätigen können. Daß bei meinen Versuchen zuweilen recht große Mengen des injizierten Rohrzuckers zurückgehalten wurden, ohne daß ich gleichzeitig Invertin im Blute nachweisen konnte, bedeutet vielleicht, daß der Zucker an anderen Orten als im Blut verbrennen kann. Wo eine solche Verbrennung stattfinden könnte, darüber wage ich mich im Augenblick nicht auszusprechen.

Kaninchen a.

Vom 23. 8. bis 28. 8. 1914 (beide Tage inkl.) wurden dem Tiere täglich 10 ccm einer ca. 5%igen Rohrzuckerlösung in eine Ohrenvene injiziert, also ca. 0,5 g Rohrzucker pro Tag.

Am 29. 8., 24 Stunden nach der letzten Injektion, wurden

so steril wie möglich ca. 10 ccm Blut aus einer Ohrenvene entnommen. Nach 24stündigem Stehen im Eisschrank hat sich ein klares gelbliches Serum ausgeschieden.

Jetzt wird in einer 1 dm-Polarisationsröhre 1 ccm des ausgeschiedenen Serums mit einer Rohrzuckerlösung gemischt; Zusatz von 1 Tropfen Toluol.

Die Mischung wird sofort polarimetrisch bestimmt: Drehungswinkel = $6^{0}40'$ (der wahre Nullpunkt des Polarisationsapparates = $3^{0}30'$).

Die Röhre wird bei 37^{0} ca. 24 Stunden in den Thermostaten gelegt und wieder polarimetrisch bestimmt: Drehungswinkel = $6^{0}40'$.

Ein anderer Teil des ausgeschiedenen Serums wird gleichfalls mit einer Rohrzuckerlösung gemischt und durch Titrierung mit der modifizierten Bangschen Mikromethode bestimmt:

sofort . . . . 0,02 $^{0}/_{0}$ Zucker,
nach 24stünd. Aufenthalt im Thermostaten 0,02 $^{0}/_{0}$ „

Zu dieser Mischung wurde kein Antisepticum hinzugesetzt.

Kaninchen b.

Sommer 1914.

An 6 aufeinander folgenden Tagen 10 ccm einer ca. 5 $^{0}/_{0}$igen Rohrzuckerlösung, also täglich ca. 0,5 g Rohrzucker in eine Ohrenvene.

48 Stunden nach der letzten Injektion werden ca. 10 ccm Blut aus einer Ohrenvene entnommen. Wie oben freiwillige Koagulation im Eisschrank. Ausscheidung eines ganz schwach rötlichen Serums.

24 Stunden nach der Blutentnahme wird das ausgeschiedene Serum mit einer Rohrzuckerlösung gemischt. Eine Polarisation der Mischung ergab sich als unmöglich.

Titrierung nach der modifizierten Bangschen Mikromethode: sofort 0,039 $^{0}/_{0}$ Zucker; nach 24stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37^{0} 0,016 $^{0}/_{0}$ Zucker.

Es wurden zur Rohrzuckerserummischung 2 Tropfen Toluol hinzugesetzt.

Es hat also während des Aufenthaltes im Thermostaten eine Zerstörung der reduzierenden Bestandteile stattgefunden, was nicht wundernehmen kann.

Kaninchen c.

Sommer 1914.

An 6 aufeinander folgenden Tagen täglich 10 ccm einer ca. 5 % igen Rohrzuckerlösung in eine Ohrenvene.

72 Stunden nach der letzten Injektion wurden wie oben ca. 10 ccm Blut entnommen. Das nach 24stündigem Stehen im Eisschrank ausgeschiedene Serum wird mit einer Rohrzuckerlösung gemischt. Toluol.

Polarisation wie bei a in 1 dm-Röhre: sofort Drehungswinkel = 6° 39′; nach 24stündigem Stehen im Thermostaten: Drehungswinkel = 6° 39′.

Ein anderer Teil des Serums wird mit gleichen Teilen einer Rohrzuckerlösung gemischt und durch die modifizierte Bangsche Mikromethode bestimmt:

sofort . . . . 0,029 % Zucker,
nach 24stünd. Aufenthalt im Thermostaten 0,020 % "

Zu dieser Mischung kein Zusatz von Antisepticum.

Kaninchen e.

Gewicht 3,0 kg.

Vom 4. 1. bis 13. 1. 1915 (beide Tage inkl.) täglich 10 ccm einer ca. 10 % igen Rohrzuckerlösung in eine Ohrenvene.

Am 14. 1. werden aus einer Vene ca. 10 ccm Blut entnommen.

Verschiedener Umstände wegen steht dieses Blut bis zum 29. 1. 1915 im Eisschrank. An diesem Tage wird das ausgeschiedene Serum mit einer ca. 10 % igen Rohrzuckerlösung zu gleichen Teilen vermischt.

Die Mischung wird in Abderhaldens 2 cm-Röhre getan und sofort polarimetrisch bestimmt: Drehungswinkel = 3° 50′ nach 24stündigem Aufenthalt im Thermostaten: Drehungswinkel = 3° 50′ nach 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten: Drehungswinkel = 3° 50′.

Es war kein Antisepticum zugesetzt.

Dieselbe Mischung wurde auch nach Bangs modifizierter Mikromethode titriert: sofort 0,029 % Zucker; nach 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten 0,038 % Zucker.

Es war auch zu dieser Mischung kein Antisepticum zugesetzt.

Es ist also eine ganz geringe Vermehrung der reduzierenden Bestandteile eingetreten, die jedoch kaum so groß ist, daß sie den Versuchsfehler übertrifft.

Kaninchen g.

Gewicht 3,4 kg.

Vom 5. 1. bis 13. 1. 1915 (beide Tage inkl.) täglich 10 ccm einer 10 %igen Rohrzuckerlösung in eine Ohrenvene.

Am 14. 1. werden aus einer Vene ca. 10 ccm Blut entnommen. Derselben Gründe wegen wie oben steht das Blut bis zum 29. 1. 1915 im Eisschrank.

Das ausgeschiedene Serum wird dann mit einer ca. 10 %igen Rohrzuckerlösung im Verhältnis Serum 1 : Rohrzuckerlösung 2 vermischt. Die Mischung wird in Abderhaldens kleine Polarisationsröhre getan. Kein Antisepticum.

Polarimetrie sofort: Drehungswinkel = $4^0 1'$;
nach 24 stünd. Aufenthalt im Thermostaten Drehungswinkel = $4^0 0'$,
„ 72 „ „ „ „ „ = $4^0 1'$.

Dieselbe Mischung, aber mit Zusatz von 2 Tropfen Toluol wird nach Bangs modifizierter Mikromethode titriert:

sofort . . . . 0,018 % Zucker,
nach 72 stünd. Aufenthalt im Thermostaten 0,028 % „

Kaninchen f.

Gewicht 3,6 kg.

Am 4. 1. 1915 wird das Tier in einem der gewöhnlichen Kaninchenkäfige mit Ablauf für den Harn gebracht. Bekommt während des ganzen Versuches Grünkohl zu fressen. An den ersten Tagen läßt es gar keinen Harn; darauf tritt aber eine reichliche Diurese ein, was sich auch bei anderen Kaninchen wiederfindet; wie gewöhnlich wird zum Harn den Tag hindurch so viel Salzsäure zugesetzt, daß die Reaktion ganz schwach sauer ist; außerdem Toluol.

Vom 7. 1. bis 8. 1. ist die Diurese = 204 ccm. Der Harn wird in gewöhnlicher Weise mit Merkurinitrat gefällt und durch Bangs Makromethode bestimmt: ÷ Reduktion.

Durch Polarimetrie: Drehungswinkel = ÷ 0,60°.

Vom 8. 1. bis 9. 1. ist die Diurese = 250 ccm.

Nach Fällung mit Merkurinitrat ist die Reduktion = 0, während der Drehungswinkel = + 0,62° ist.

Wie aus der Periode vor und nach dem Versuche ersichtlich sein wird, besitzt der Harn unter den angeführten Versuchsbedingungen für Kaninchen nach einer Fällung mit Merkurinitrat einen Drehungswinkel von + 0,58° — + 0,60°, also ein merkwürdig hohes, rechtsdrehendes Vermögen. Dieser Wert wurde daher bei den Beobachtungen berücksichtigt.

Tabelle I.

Datum	Injiziert ccm	Injiziert Rohrzucker g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Ausgeschiedener Rohrzucker g
9.–10. 1.	39	7,93	156	÷Redukt.	1,73 %	2,70
10.–11.	0	0	124	"	1,38 %	1,71
11.–12.	50	11,05	200	"	2,29 %	4,58
12.–13.	0	0	380	"	1,68 %	6,38
13.–14.	50	7,45	268	"	2,56 %	6,86
14.–15.	50	7,87	160	"	2,78 %	4,45
15.–16.	50	7,39	355	"	2,36 %	8,38
16.–17.	0	0	204	"	+ 0,60°	0,00
17.–18.	0	0	434	"	+ 0,58°	0,00
18.–19.	50	7,61	312	"	2,11 %	6,58
19.–20.	0	0	270	"	+ 0,58°	0,00
20.–21.	0	0	334	"	0,15 %	0,50
21.–22.	0	0	300	"	+ 0,58°	0,00
22.–23.	0	0	245	"	0,11 %	0,27
23.–24.	0	0	206	"	0,06 %	0,12
24.–25.	0	0	250	"	+ 0,60°	0,00
25.–26.	0	0	194	"	+ 0,62°	0,00
26.–27.	0	0	330	"	+ 0,60°	0,00
27.–28.	0	0	260	"	+ 0,62°	0,00

Die Injektionen fanden stets ganz langsam in eine Ohrenvene mittels einer genau kalibrierten Rekordspritze statt. Es wurde während des Versuches kein Albumin im Harn beobachtet. Es ist keine Anpassung an den Rohrzucker ersichtlich.

Im ganzen wurden 49,30 g Rohrzucker injiziert.

Davon sind ausgeschieden worden 42,53 g Rohrzucker.

Also hat das Tier ein wenig über 13 % der injizierten Menge zurückgehalten.

Am 29. 1. Nachmittag werden ca. 10 ccm Blut aus einer Ohrenvene entnommen. Im Eisschrank bis 4. 2. An diesem Tage wird ca. 1 ccm des ausgeschiedenen, recht stark roten Serums mit ca. 2 ccm einer 10 % igen Rohrzuckerlösung gemischt. Die Mischung ist polarimetrisch nicht zu bestimmen.

Sofortige Doppelanalyse nach der modifizierten Bangschen Mikromethode:

I = 0,039 % Zucker II = 0,036 % Zucker.

Der Rest steht nach Zusatz von 6 Tropfen Toluol 48 Stunden im Thermostaten und ergibt nun

I = 0,038 % Zucker II = 0,036 % Zucker.

Am 29. 1. wird das Tier nach einer Blutprobeentnahme in den Tierstall gebracht. Es wiegt nach dem Versuch nur 3,4 kg, hat aber auch nicht soviel zu fressen bekommen, wie es wollte.

Am 15. 3. (also ca. 14 Tage nach Beendigung der vorigen Versuchsreihe) wurden 10 ccm einer ca. 10 % igen Rohrzuckerlösung subcutan injiziert.

Am 16. 3. wurden ca. 15 ccm Blut aus einer Ohrenvene entnommen. Im Eisschrank bis 18. 3., wo das klare, gelbe Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10 % igen Rohrzuckerlösung vermischt wurde. Die Mischung wurde teils auf Abderhaldens kleine Polarisationsröhre (kein Toluol) gefüllt und sofort bestimmt: Drehungswinkel = 3° 41′ und nach 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten 3° 42′, teils wurde sie nach Bangs modifizierter Mikromethode titriert: sofort 0,044 % Zucker; nach 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten (gleichfalls ohne Toluol) 0,050 % Zucker.

Kaninchen i.

Gewicht 2,6 kg.

Kam 19. 2. 1915 in die Kiste mit Einrichtung zur Aufsammlung des Harns.

Bekommt wie das vorige Kaninchen Grünkohl in beschränkter Menge zu fressen.

Auch der Harn dieses Tieres dreht unter diesen Umständen 0,56° nach rechts.

Tabelle II.

Datum	Injiziert ccm	Injiziert Rohrzucker g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Ausgeschiedener Rohrzucker g
20.–21. 2.	0	0	182	÷Redukt.	+ 0,56°	0,00
21.–22.	0	0	134	"	+ 0,56°	0,00
22.–23.	50	0	230	"	+ 0,56°	0,00
23.–24.	50	4,81	166	"	2,51 %	4,17
24.–25.	50	5,10	226	"	1,99 %	4,50
25.–26.	50	5,00	340	"	0,78 %	2,65
26.–27.	20	0,95	250	"	0,83 %	2,08
27.–28.	50	4,85	250	"	1,53 %	3,75
28.2.–1.3.	0	0	166	"	+ 0,56°	0,00
1.–2.	50	4,82	224	"	1,34 %	3,00
2.–3.	0	0	55	"	+ 0,56°	0,00
3.–4.	0	0	74	"	+ 0,56°	0,00

Die Injektionsflüssigkeit bestand am 22. 2. aus physiologischer Kochsalzlösung, sonst immer aus einer Rohrzuckerlösung.

Im ganzen wurden 26,53 g Rohrzucker injiziert, wovon 20,15 g wieder ausgeschieden wurden; es wurden also ca. 23 % der injizierten Menge zurückgehalten.

Am 2. 3. werden aus einer Ohrenvene ca. 10 ccm Blut entnommen. Im Eisschrank bis zum 5. 3.; das ausgeschiedene klare Serum wird zu gleichen Teilen mit einer ca. 10 %igen Rohrzuckerlösung gemischt.

Die Mischung wird sofort in Abderhaldens kleiner Polarisationsröhre bestimmt: Drehungswinkel = 3° 40′, und nach 72 stündigem Aufenthalt im Thermostaten (Toluol) ist er = 3° 40′.

Die modifizierte Bangsche Mikromethode ergibt sofort eine Reduktion = 0,063 % Zucker, nach gleichfalls 72 stündigem Aufenthalt im Thermostaten = 0,055 % Zucker.

Obschon eine recht große Menge Rohrzucker zurückgehalten worden ist, hat keine Anpassung stattgefunden, und es findet sich kein Invertin im Serum.

Ziegenbock Nr. 43.

Am 18. 6. 1914 wurden 10 ccm einer 5 %igen Rohrzuckerlösung subcutan injiziert.

Am 19. 6. 15 g Rohrzucker in 20 ccm Wasser subcutan.

Am 20. 6. die gleiche Menge.

Am 23. 6. werden durch Venenpunktur ca. 100 ccm Blut entnommen, gingen indessen durch einen Unfall verloren.

Am 23. 6. dieselbe Injektion wie am 19. 6.

Am 25. 6. 50 g Rohrzucker, in 50 ccm Wasser gelöst, subcutan injiziert.

Am 27. 6. dieselbe Gabe subcutan.

Am 29. 6. wurden durch Venenpunktur ca. 75 ccm Blut entnommen und in den Eisschrank gestellt. Gleichzeitig wurde dieselbe Dosis injiziert wie am 25. 6. Am 30. 6. wieder dieselbe Gabe.

Am 30. 6. werden vom ausgeschiedenen klaren Serum ca. 30 ccm mit ca. 30 ccm einer $10^{0}/_{0}$igen Rohrzuckerlösung gemischt.

Es werden der Mischung sofort 25 ccm entnommen, die wie beschrieben mit 25 ccm Wasser verdünnt, mit Merkurinitrat gefällt und sofort untersucht werden.

Polarimetrisch: Drehungswinkel = $4{,}90^{0}$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 39,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird mit Toluol bei 37^{0} bis zum 2. 7. in den Thermostaten gestellt.

Dann werden wieder 25 ccm in derselben Weise untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = $4{,}90^{0}$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 39,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Am 1. 7., 2. 7., 3. 7. wieder dieselbe Gabe subcutan wie am 25. 6.

Es stellt sich danach keine Temperatursteigerung ein, weshalb keine Injektionen stattfinden vor dem 6. 7., wo wieder 50 g Rohrzucker subcutan injiziert werden.

Darauf dieselbe Gabe täglich vom 8. 7. bis 16. 7. (beide Tage inkl.). Am 17. 7. werden ca. 75 ccm Blut entnommen und bis zum 19. 7. in den Eisschrank gestellt. Das ausgeschiedene Serum wird dann zu gleichen Teilen mit einer ca. $10^{0}/_{0}$igen Rohrzuckerlösung gemischt.

Davon werden 25 ccm sofort in der obengenannten Weise behandelt und untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = $5^{0}\,5'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Nach 25stündigem Aufenthalt im Thermostaten (Toluol) werden wieder 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 4′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Vom 22. 8. bekommt das Tier 14 Tage hindurch täglich 15 g Rohrzucker in 50 ccm Wasser gelöst zu trinken.

Am 3. 9. werden 50 g Rohrzucker, in 50 ccm Wasser gelöst, subcutan injiziert.

Am 4. 9. werden ca. 70 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 5. 9. wird das Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt.

25 ccm der Mischung werden in gewöhnlicher Weise behandelt und untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 8′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 40,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird bis zum 8. 9., also ca. 72 Stunden lang, in den Thermostaten (Toluol) gestellt.

Dann werden wieder 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 5′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 47,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Ziegenbock Nr. 44.

Am 18. 6. 1914 20 ccm einer ca. 5%igen Rohrzuckerlösung intravenös injiziert.

Am 19. 6. 15 g Rohrzucker, in 20 ccm Wasser gelöst, intravenös injiziert.

Am 20. 6. und 23. 6. dieselbe Gabe wie am 19. 6.

Am 25. 6. 50 g Rohrzucker, in 50 ccm Wasser gelöst, intravenös injiziert.

Am 27. 6. dieselbe Gabe wie am 25. 6., aber außerdem 30 ccm einer Invertzuckerlösung, die durch zweistündige Erwärmung der folgenden Lösung auf dem Wasserbad hergestellt worden war:

240 g Rohrzucker,

3 g Weinsäure,
600 g Wasser.

Am 28. 6. wurden wieder 30 ccm der obengenannten Invertzuckerlösung intravenös injiziert.

Am 29. 6. dieselbe Gabe wie am 25. 6. Gleichzeitig wurden dem Tier ca. 75 ccm Blut entnommen, die wie gewöhnlich bis zum 30. 6. in den Eisschrank gestellt wurden.

Am 30. 6. ist die Temperatur des Tieres gesteigert, und es hat Durchfall.

Das ausgeschiedene Serum vom gestrigen Blut wird mit gleichen Teilen einer $10\,^0/_0$igen Rohrzuckerlösung gemischt. Wie gewöhnlich 25 ccm sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 4^0\,79'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 37,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird bis zum 2. 7., also 48 Stunden lang, in den Thermostaten gestellt.

Wiederum 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 4^0\,83'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 40,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Drehungswinkel der Mischung ist also nach 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten ein wenig größer geworden, indem die Differenz zwischen den beiden Werten den Versuchsfehler übertrifft.

Am 1. 7. hat das Tier wieder normale Temperatur, aber noch einigen Durchfall.

Am 2. 7. 50 g Rohrzucker, in 40 ccm Wasser gelöst, intravenös. Sofort nach dieser Injektion wurde das Tier sehr unruhig, stieß mit den Hörnern gegen die Wand, versuchte sich auf den Kopf zu stellen und dergleichen, aber dies verlor sich bald.

Temperatur an demselben Tag abends $= 39{,}7^0$; danach wieder einige Temperatursteigerung (über $39{,}0^0$); keine Injektion vor dem 6. 7., wo dieselbe Gabe wie am 2. 7. intravenös injiziert wird.

Darauf vom 7. 7. bis 16. 7. (beide Tage inkl.) täglich dieselbe Gabe intravenös.

Am 17. 7. werden 75 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 19. 7. wird das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt.

Von der Mischung werden 25 ccm sofort in gewöhnlicher Weise untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 4° 59′.

Durch die **Bang**sche Titrierung: verbraucht 49,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest 24 Stunden lang im Thermostaten (Toluol).

Wiederum 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 4° 57′.

Die **Bang**sche Titrierung: verbraucht 49,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Vom 22. 8. erhält das Tier täglich an den folgenden zehn Tagen 100 g Rohrzucker, in 100 g Wasser gelöst, per os.

Am 3. 9. 50 g Rohrzucker, in 50 g Wasser gelöst, intravenös.

Am 4. 9. Venensektion; ca. 40 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 5. 9. werden ca. 15 ccm Serum mit ca. 40 ccm einer ca. 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt; von dieser Mischung werden wie gewöhnlich 25 ccm sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 51′.

Durch die **Bang**sche Titrierung: verbraucht 41,0 ccm Hydroxylaminlösung

und nach 72 stündigem Aufenthalt im Thermostaten:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 49′.

Durch die **Bang**sche Titrierung: verbraucht 43,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Ziegenbock Nr. C.

Gewicht 20 kg.

Wurde früher zu permanentem Einlauf benutzt, ist aber vollständig gesund und normal, weist speziell ÷ Albumin im Harn auf.

Dieses Tier erhält, wie alle die vorigen und die noch folgenden, bei denen nichts Spezielles angeführt ist, die gewöhnliche Kost, jedoch in etwas beschränktem Umfang.

Es wird am 2. 12. 1914 eine Kanüle zwecks permanenten Einlaufs in die Vena lienalis eingeführt. Infusion sofort nach der Operation. Zur Einlaufsflüssigkeit ist hier wie überall

Natriumcitrat gesetzt, und die ganze Flüssigkeit ist, soweit dieses möglich war, mittels NaCl dem Blut isotonisch gemacht. Die Stärke der Einlaufsflüssigkeit wird jeden Tag polarimetrisch bestimmt.

Tabelle III.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
2.—3. 12.	1750	51,10	415	10,69 °/₀	44,36	38,6—38,1
3.—4.	1825	71,36	1570	3,55 °/₀	55,73	38,7—38,0
4.—5.	1800	89,82	2100	4,14 °/₀	86,94	38,2—37,8
5.—6.	1800	107,10	1200	7,65 °/₀	91,80	39,2—38,3
6.—7.	1800	106,92	1050	7,88 °/₀	82,74	38,9—38,5
7.—8.	1775	105,44	840	2,35 °/₀	19,74	39,7—39,0
8.—9.	1825	0	350	3,05 °/₀	10,67	38,9—38,8
9.—10.	1850	0	325	1,88 °/₀	6,11	39,4—38,7
10.—11.	1900	0	2500	1,22 °/₀	30,50	38,9—39,0
11.—12.	1800	0	3650	0,87 °/₀	31,76	38,5—39,0
12.—13.	1775	0	3700	0,50 °/₀	18,50	39,0—38,3
13.—14.	1800	0	2320	0,30 °/₀	6,96	39,9—39,3
14.—15.	1800	0	2700	0,32 °/₀	8,64	38,7—38,8
15.—16.	1875	0	1600	0,42 °/₀	6,72	38,8—38,4
16.—17.	1800	0	1350	0,42 °/₀	5,67	38,2—39,0
17.—18.	1775	0	1580	0,27 °/₀	4,27	38,8—38,9
18.—19.	1775	0	1700	0,32 °/₀	5,44	39,6—38,7

Vom 6. 12. ergibt der Harn eine sehr kräftige Albuminreaktion, und die Albuminmenge nimmt bis zum 10. 12. schnell zu. Gleichzeitig nimmt die Diurese ab, und das Tier hört zu fressen auf. Vom 11. 12. nimmt die Albuminmenge wieder ab, und die Diurese wird sehr groß. Es finden sich jedoch bis zuletzt bedeutende Mengen von Albumin.

Der Rohrzuckerprozentsatz im Harn ist in gleichmäßiger Abnahme begriffen, sobald die Rohrzuckerinjektionen eingestellt werden, was am 8. 12. geschieht. Von einer Anpassung vor dieser Zeit kann, wie aus der Tabelle ersichtlich, keine Rede sein. Vom 8. 12. wird dem Tier nur eine 0,9 °/₀ige NaCl-Lösung infundiert.

Das Tier ist fortwährend matt, weist Albumin im Harn auf, frißt und trinkt nichts; wird daher am 19. 12. getötet. Die Sektion ergab Anzeichen einer frischen Nierenentzündung. Es werden ca. 300 ccm Ascitesflüssigkeit vorgefunden, deren Untersuchung einen Rohrzuckergehalt von 0,10 °/₀ ergibt.

Bevor das Tier getötet wird, hat man ihm wie gewöhnlich unter aseptischen Kautelen ca. 70 ccm Blut entnommen, das bis zum 21. 12. in den Eisschrank gestellt wird.

Dann wird das Serum zu gleichen Teilen mit einer 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt.

25 ccm werden sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 14′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 42,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest kommt 30 Stunden in den Thermostaten (Toluol).

Wiederum 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 14′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Während des Versuches sind im ganzen 531,74 g Rohrzucker injiziert worden, wovon 514,55 g wieder ausgeschieden wurden; das Tier enthielt aber beim Tode noch Rohrzucker.

Ziegenbock Nr. 40.

Gewicht 36 kg.

Am 3. 6. 1914 wird in die Vena jugularis eine Kanüle eingeführt.

Diesem Ziegenbock werden darauf permanent große tägliche Gaben von Rohrzucker injiziert, über 100 g täglich; wegen verschiedener Schwierigkeiten bei der Versuchsanstellung und den Analysemethoden werde ich aber über die aufgenommenen und ausgeschiedenen Mengen von Zucker keine Mitteilung machen.

Dem Tiere waren am 15. 6. ca. 1250 g Rohrzucker injiziert worden.

An diesem Tage werden dem Tier ca. 100 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 17. 6. wird 1/4 ccm des ausgeschiedenen, etwas rötlichen Serums in einer 1 dm-Polarisationsröhre mit einer 5%igen Rohrzuckerlösung gemischt. Es erwies sich als unmöglich, mehr Serum zu gebrauchen. Es wurden 2 Tropfen Toluol zugesetzt und der Drehungswinkel war:

Sofort: 6° 36′.

Nach 16 stünd. Aufenthalt im Thermostaten bei 37°: 6° 36′.

Nach noch 12 stündigem Aufenthalt im Thermostaten: 6° 35′.
„ „ 9 „ „ „ „ 6° 36′.

Das Tier hat aber am 16. 6. Albumin im Harn, und die Infusion wird daher am 18. 6. eingestellt. Es sind nun dem Tiere im ganzen ca. 1600 g Rohrzucker eingegeben worden. Es hat bis zu diesem Zeitpunkt nicht unbedeutende Mengen Rohrzucker zurückgehalten, hat aber wahrscheinlich eine recht akute Nephritis; es scheint von diesem Zeitpunkt auch recht matt, wird daher aus der Kiste herausgenommen und im Stall angebracht, wo es sich augenscheinlich recht bald wieder erholt.

Am 25. 6. werden wieder 100 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 26. 6. wird das Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 5%igen Rohrzuckerlösung gemischt. Da sich nur sehr wenig Serum ausgeschieden hat, muß man mit 10 ccm der Mischung vorlieb nehmen, die bis auf 50 ccm verdünnt werden; sonst wird die Mischung in gewöhnlicher Weise sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 3° 55′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Nach 72 stündigem Aufenthalt im Thermostaten (Toluol):

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 4° 0′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Hier ist also der Drehungswinkel etwas größer geworden, jedoch nur sehr wenig, und jedenfalls nicht in einer solchen Richtung, daß es auf die Bildung von Invertzucker hinweisen könnte.

Das Tier wird nun bis zum 8. 7. in Ruhe gelassen. Der Harn enthält nun kein Albumin mehr.

Bekommt vom 8. 7. bis 28. 7. täglich 50 g Rohrzucker, in 50 g Wasser gelöst, zu trinken. Wieder dieselbe Gabe per os vom 22. 8. bis 4. 9.

Am 3. 9. werden 50 g Rohrzucker, in 50 ccm Wasser gelöst, intravenös injiziert.

Am 4. 9. Venensektion; ca. 50 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 5. 9. wird das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer 10 %igen Rohrzuckerlösung gemischt.

25 ccm der Mischung werden in gewöhnlicher Weise behandelt und sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 5'.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird 72 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt. Die gewöhnliche Untersuchung von 25 ccm ergibt:

Polarimetrisch: Drehungswinkel 5° 5'.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Ziegenbock Nr. 42.

Gewicht 22,5 kg.

Am 18. 6. 1914 1 Uhr nachm. Kanüle in die Vena jugularis.

Frißt zu Anfang des Versuches gut, hört aber sehr bald ganz zu fressen auf.

Tabelle IV.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
18.–19. 6.	2000	0	1000 +++	0,00 %	0	?
19.–20.	2000	117,20	1410	5,55 %	78,26	38,9–38,0
20.–21.	2000	115,40	1100	11,55 %	127,05	38,8–38,1
21.–22.	2000	115,40	800	13,83 %	110,64	39,2–38,3
22.–23.	2000	114,40	2250	4,35 %	97,88	38,7–38,4
23.–24.	1700	98,60	1820	1,69 %	32,76	39,5–38,0

Bereits am 21. 6. ergab der Harn deutliche Albuminreaktion.

Am 23. 6. ist diese viel stärker geworden. Man sieht den Rohrzuckerprozentsatz des Harns gleichzeitig abnehmen; das Tier frißt von dem Tage auch nicht mehr.

Am 24. 6. 7 Uhr morgens war das Tier sehr matt, und es starb 9½ Uhr.

Kurz zuvor hatte man doch Gelegenheit gehabt, dem Tier ca. 100 ccm Blut zu entnehmen. Eisschrank bis zum 26. 6.

Die Sektion ergab:

Einen großen Embolus in der Arteria pulmonalis.

Zahlreiche Infarkte in der linken Lunge.

Reichliche Flüssigkeit im linken und rechten Pleuraraum.

Starke Hyperämie bei den Nieren.

Am 26. 6. wird das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt.

25 ccm der Mischung werden sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 22′.

Die Bangsche Titrierung: verbraucht 47,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Nachdem der Rest 72 Stunden im Thermostaten gestanden hatte:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 27′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Also hat auch hier im Laufe von 72 Stunden eine kleine Veränderung (Zunahme) des Drehungswinkels stattgefunden; nichts deutet aber in der Richtung von vorhandenem Invertin.

Schaf Nr. 1.

Am 14. 10., 15. 10., 16. 10., 17. 10., 19. 10., 20. 10. und 21. 10. 1914 werden täglich 5 g Rohrzucker, in 10 ccm Wasser gelöst, subcutan injiziert.

Am 22. 10. werden dem Tier ca. 70 ccm Blut entnommen. Eisschrank. Die Ausscheidung von Serum geht sehr langsam und unvollständig von statten.

Am 24. 10. wird ein wenig Toluol zugesetzt, und das Blut steht nun im Eisschrank zur Untersuchung zusammen mit der nächsten Portion am 4. 11. 1914.

Es werden 20 ccm Serum mit 40 ccm einer 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt. Wie gewöhnlich werden 25 ccm sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 48′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 46 ccm Hydroxylaminlösung.

Nach 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 38′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 40 ccm Hydroxylaminlösung.

Hier hat also eine kleine Veränderung sowohl des Drehungs-

winkels als der Reduktionsziffer stattgefunden, aber eine Vermischung mit Bakterien ist hier auch nicht ganz ausgeschlossen (die lange Zeit, während der das Blut vor der Untersuchung gestanden hat).

Am 27. 10., 28. 10., 29. 10. und 30. 10. wieder 5 g Rohrzucker, in 10 ccm Wasser gelöst, täglich subcutan. Am 31. 10. wieder ca. 80 ccm Blut entnommen. Eisschrank. Es scheidet sich langsam ein recht starkes rotes Serum aus.

Am 4. 11. wird $^1/_2$ ccm Serum mit $1^1/_2$ ccm Rohrzuckerlösung (ca. 10%ig) gemischt. Die Mischung wird in eine Polarisationsröhre getan, die ca. 7 cm lang ist, aber nur ca. 2 ccm fassen kann. Es wird 1 Tropfen Toluol zugesetzt.

Nach sofortiger Untersuchung: Drehungswinkel = $4^0\,4'$.

Nach 24 stündigem Aufenthalt im Thermostaten: Drehungswinkel = $4^0\,3'$.

Nach noch 18 stündigem Aufenthalt im Thermostaten: Drehungswinkel = $3^0\,59'$.

Bereits nach 24 stündigem Aufenthalt im Thermostaten ist der Inhalt der Röhre getrübt und unklar, und die Unklarheit nimmt fortwährend zu; demgemäß ist eine genaue Ablesung auch erschwert. Auf die letzte Ablesung ($3^0\,59'$) darf man daher sicherlich nicht viel Gewicht legen. Bereits nach im ganzen 60 Stunden ist jede Einstellung ganz unmöglich.

Am 4. 11. werden von demselben Blut ca. 30 ccm Serum mit ca. 30 ccm einer 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt und nach **Bang** titriert:

Sofort: verbraucht 47,50 ccm Hydroxylaminlösung und nach 48 stündigem Aufenthalt im Thermostaten (Toluol): verbraucht 47 ccm Hydroxylaminlösung.

Am 10. 11. erhielt das Tier 50 g Rohrzucker, in so wenig Wasser wie möglich gelöst, subcutan. Dieselbe Gabe am 11. 11., 13. 11., 14. 11., 16. 11., 17. 11., 18. 11., 19. 11., 20. 11., 21. 11. und 23. 11.

Am 24. 11. Venensektion und ca. 90 ccm Blut entnommen. Eisschrank. Die Ausscheidung von Serum geht wieder sehr langsam von statten.

Am 27. 11. wird das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer 10%igen Rohrzuckerlösung gemischt.

25 ccm sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 11′.

Durch die **Bangsche** Titrierung: verbraucht 43 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest steht 24 Stunden im Thermostaten (Toluol) und ergibt:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 11′.

Durch die **Bangsche** Titrierung: verbraucht 40 ccm Hydroxylaminlösung.

Nach noch 24 stündigem Aufenthalt im Thermostaten:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 11′.

Durch die **Bangsche** Titrierung: verbraucht 36 ccm Hydroxylaminlösung.

Das Polarisationsresultat ist also die ganze Zeit hindurch dasselbe. Die Titrierung ergibt eine Vermehrung der reduzierenden Bestandteile, die aber so gering ist, daß man daraus nichts schließen kann.

Inzwischen hatte ich **Abderhaldens** kleine Polarisationsröhren (die früher erwähnt wurden) erhalten, und ich untersuchte nun dieselbe Mischung darin.

Sofort ist der Drehungswinkel = 4° 8′.

Nach 24 stündigem Aufenthalt im Thermostaten (Toluol) = 4° 9′.

Nach 48 stündigem Aufenthalt im Thermostaten = 4° 8′.

Dasselbe Schaf verweilt nun im Stall bis zum 20. 4. 1915. Dann wird 1 Uhr nachm. eine Kanüle in die linke Vena jugularis eingeführt.

Gewicht des Tieres 36 kg.

Vom 20. 4. bis 21. 4. Infusion einer 0,9 %igen NaCl-Lösung, im ganzen 1300 ccm.

Temperatur: 38,7 — 39,1; Diurese: 600 ccm.

Es hat Heu zu fressen bekommen. Der Harn ist sogar nach Fällung mit Merkurinitrat stark gelb und ergibt eine Reduktion, die 0,08 % entspricht, als Glucose berechnet, und eine Linksdrehung von 0,36°.

Vom 21. 4. bis 22. 4. 1800 ccm NaCl-Lösung; Temperatur: 39,3 — 38,6°; Diurese: 1000 ccm.

Hat wieder Heu und Wasser bekommen, da sich aber vom Beutel unter dem Bauch des Tieres aus Heustummel in der

Ablaufsröhre ansammeln und dadurch etwas Harn verloren geht, wird das Tier vom 22. 4. auf Inanition gesetzt.

Der Harn ergibt nach Fällung mit Merkurinitrat ÷ Reduktion, aber eine Linksdrehung von 0,16°.

Vom 24. 4. Infusion von

20 g Rohrzucker,
20 g Natriumcitrat,
0,9 %ige NaCl-Lösung ad 2000 ccm.

Tabelle V.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
22.—23. 4.	1800	17,64	1900	0,72 %	13,68	38,2—38,5
23.—24.	1800	17,28	1700	1,05 %	17,85	39,2—38,4
24.—25.	1800	15,84	2320	0,75 %	17,40	39,2—38,5
25.—26.	1950	18,14	2270	0,77 %	17,25	38,5—38,3
26.—27.	1750	15,75	2020	0,82 %	16,56	38,4—38,1
27.—28.	1800	18,54	2150	0,77 %	16,56	38,7—38,8
28.—29.	1800	0	2510	0,17 %	4,27	39,0—38,4
29.—30.	1800	0	1920	÷ 0,16°	0	38,4—38,1
30.4.—1.5.	1800	0	2090	÷ 0,16°	0	38,6—37,9
1.—2.	1800	0	1900	÷ 0,16°	0	38,3—37,9
2.—3.	1800	0	1830	÷ 0,16°	0	38,6—38,4
3.—4.	1775	0	1720	÷ 0,16°	0	38,4—38,1

Der Rohrzuckerprozentsatz des Harns nimmt sofort bei der ersten Injektion zu und bleibt dann einigermaßen unverändert auf derselben Höhe stehen; bereits am Tage nach der letzten Injektion hat der Organismus sich von der ganzen injizierten Menge befreit. Im ganzen wurden 103,19 g Rohrzucker injiziert, im Harn wurden 103,57 g vorgefunden. Dies scheint die Hypothesen zu bestätigen, die oben über das Verhältnis zwischen den Mengen des injizierten Rohrzuckers und des Ausscheidungsvermögens der Nieren ausgesprochen wurden.

Gewicht des Tieres nach dem Versuch 28,5 kg.

Am 4. 5. werden ca. 90 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 6. 5. wird Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10 %igen Rohrzuckerlösung vermischt.

25 ccm der Mischung werden sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 4° 54′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird 48 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt, dann ergeben 25 ccm:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = $4^0\,55'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Ferkel Nr. a.

Gewicht 40 kg.

Am 8. 12. 1914 werden 10 ccm einer ca. 10%igen Rohrzuckerlösung subcutan injiziert.

Am 9. 12. dieselbe Gabe.

Am 10. 12. werden 50 g Rohrzucker, in so wenig Wasser wie möglich gelöst, subcutan injiziert.

Am 11. 12. dieselbe Gabe wie am 8. 12.

An demselben Tag wird das Tier mit einem Beutel unter dem Bauch in einer der gewöhnlichen Ziegenbockkisten untergebracht. Es zeigt sich indessen bald, daß es liegend harnt, weshalb der Beutel entfernt und der Boden der Kiste durch ein starkes Drahtnetz ersetzt wird. Es zeigt sich auch, daß man die Vermischung des Harns und Kots nicht in gewöhnlicher Weise verhindern kann, weshalb dem Ferkel ein paar Hosen aus Mosetigbattist genäht werden. Diese Hosen schließen dicht um den Hinterkörper und um die Hinterbeine, indem sie an diesen Stellen durch Schnürbänder zusammengeschnürt werden. Nach hinten zu kann eine Kappe heruntergemacht werden, so daß der Kot, sobald das Tier defäziert hat, entfernt werden kann. Während des ganzen Versuches erhält das Tier seine gewöhnliche Kost, jedoch in abgewogener Menge, nämlich: 750 g Gerstenschrot in 1 Liter Halbmilch, die letzten 3 Tage noch 1200 ccm Wasser; das Fressen wird dem Ferkel 3mal täglich vorgestellt. Es wird, während das Tier frißt, darauf geachtet, daß nichts über die Ränder des Eßtroges hinausläuft, und der Trog wird entfernt, sobald das Tier fertig gefressen hat. Nach der Mahlzeit werden dem Tier Maul- und Schnauzenpartie sorgsam abgewischt.

Am 12. 12 1 Uhr nachm. wird in die linke Vena jugularis eine Kanüle eingeführt. Gleichzeitig werden ca. 60 ccm Blut

entnommen. Eisschrank bis 15. 12. Dann wird das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer 10 %igen Rohrzuckerlösung vermischt.

25 ccm der Mischung sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 35′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 44 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird 48 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt, dann werden wieder 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 35′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 43 ccm Hydroxylaminlösung.

Am ersten Tag, wo die Infusion einer 0,9 %igen NaCl-Lösung stattfindet, dreht der mit Merkurinitrat gefällte Harn 0,04° nach rechts (vermutlich ein wenig Rohrzucker, der von der letzten Rohrzuckerinjektion herstammt), aber bereits am nächsten Tage dreht der Harn wie gewöhnlich bei diesem Ferkel bei normalen Verhältnissen 0,10° nach links.

Tabelle VI.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
12.—13. 12.	1800	0	2100	÷ Redukt.	+ 0,04°		38,6—39,4
13.—14.	1900	0	3270	"	÷ 0,10°	0	38,7—37,9
14.—15.	1800	70,74	3400	"	1,62 %	55,08	39,9—38,4
15.—16.	1800	90,36	2600	"	3,53 %	91,78	38,4—38,1
16.—17.	1800	107,82	3000	"	3,17 %	95,10	38,6—38,2
17.—18.	1800	105,30	3530	"	3,28 %	115,78	38,6—38,0
18.—19.	1800	0	2900	"	0,39 %	11,31	38,6—38,1
19.—20.	2275	0	3580	"	0,15 %	5,37	38,6—38,0
20.—21.	2250	0	3260	"	÷ 0,10°	0	38,7—38,4
21.—22.	2300	0	3900	"	÷ 0,10°	0	38,4—37,9

Die Infusionsflüssigkeit bestand den 12. 12. bis 13. 12. und 13. 12. bis 14. 12. sowie den 18. 12. bis 22. 12. aus einer 0,9 %igen NaCl-Lösung. Am 14. 12. bis 15. 12. bestand sie aus ca. 80 g Rohrzucker, 15 g Natriumcitrat, 14 g NaCl und Wasser ad 2000 ccm.

Am 15. 12. bis 16. 12. dieselben Mengen, jedoch 100 g Rohrzucker.

Am 16. 12. bis 17. 12. und 17. 12. bis 18. 12. nimmt die Rohrzuckermenge zu bis auf ca. 120 g, sonst wie vorhin.

Man sieht, daß der Rohrzuckerprozentsatz des Harns sehr schnell bis auf über 3 % ansteigt, dann bleibt er einigermaßen konstant, um dann wieder sehr schnell abzufallen, sobald die Injektionen aufhören.

Es sind im ganzen injiziert: 374,22 g Rohrzucker.

Im ganzen ausgeschieden: 374,42 g Rohrzucker.

Da also nach dem Harnbefund wohl kein Invertin im Blute gebildet worden ist, wird dieses nicht untersucht.

Hund Nr. 1.

Junger Hund: Gewicht 12,4 kg.

Am 13. 1. 1915 1 Uhr nachm. wird in die linke Vena jugularis eine Kanüle eingeführt, nachdem das Tier erst einige Tage lang in der Kiste gestanden hat.

Das Tier erhält während des ganzen Versuches Wasser zu trinken und mit Schmalz bestrichenes Schwarzbrot zu fressen. Dieselbe Kost erhalten auch die folgenden Hunde.

Tabelle VII.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
14.—15. 1.	1300	0	1180	÷ Redukt.	0,00°	0	39,5—39,3
15.—16.	1300	25,22	1460	„	0,92 %	13,43	39,8—39,2
16.—17.	1325	25,71	1150	„	1,28 %	14,72	38,8—39,4
17.—18.	1325	26,10	1050	„	1,56 %	16,38	38,5—38,1
18.—19.	1300	25,87	1420	„	1,55 %	22,01	38,6—38,5
19.—20.	1300	26,13	1090	„	1,28 %	13,95	38,7—38,9
20.—21.	1300	26,39	1135	„	1,70 %	19,30	39,2—39,1
21.—22.	1300	26,13	1280	„	1,48 %	18,94	39,3—38,1
22.—23.	1300	25,74	1250	„	1,53 %	19,13	38,2—38,3
23.—24.	1300	24,70	1005	„	1,50 %	15,08	39,1—39,2
24.—25.	850	16,58	865	„	1,38 %	11,94	38,1—38,0
25.—26.	0	0	350	„	0,21 %	0,74	38,2—38,5
26.—27.	0	0	90	„	0,00°	0	38,8—38,2
27.—28.	0	0	205	„	0,00°	0	39,4—38,5
28.—29.	0	0	134	„	0,00°	0	38,6—38,5
29.—30.	0	0	50	„	0,00°	0	38,7—38,2
30.—31.	0	0	184	„	0,00°	0	38,3—38,4
31.1.—1.2.	0	0	104	„	0,00°	0	38,4—38,2
1.—2.	0	0	234	„	2,80°	0	38,9—38,4
2.—3.	0	0	248	„	0,00°	0	38,7—38,6

Die Infusionsflüssigkeit besteht, wo in der Tabelle unter eingegebenem Rohrzucker 0 steht, aus der 0,9 $^0/_0$ igen NaCl-Lösung, in allen übrigen Fällen aus ca. 30 g Rohrzucker, 20 g Natriumcitrat, 0,9 $^0/_0$ NaCl-Lösung ad 1500 ccm.

Am 25. 1. morgens wird der Einlauf eingestellt. Im Laufe der Nacht hat sich nämlich an der Kanüle eine Undichtigkeit ergeben (annehmbar eine Usur der Venenwand durch die Kanülenspitze), und ein Teil der Infusionsflüssigkeit ist im Laufe der Nacht durch die Wunde am Halse hinausgelaufen. Das Tier wird nun mit in Wasser getränkter Watte gewaschen, die in den Harn abgepreßt wird. Wenn auch etwas von der Lösung in den Harn hinabgelaufen ist, hat dieses ja bei der Berechnung der eingegebenen und ausgeschiedenen Mengen nichts zu bedeuten. Es kann dagegen dadurch ein Fehler entstehen, daß sich das Tier geleckt hat, welcher Fehler jedoch kaum besonders groß sein kann.

Am 26. 1. stellt sich purulenter Ausfluß von der Schnauze und den Conjunctivis des Hundes ein (Staupe). Da man den Hund gern behufs eines Versuches in unmittelbarer Fortsetzung des vorigen Versuches in der Kiste behalten wollte, ließ man ihn darin bleiben; da aber der Ausfluß sich fortwährend verschlimmerte und sich zudem ein heftiger Durchfall einstellte, nachdem das Tier vom 1. 2. bis 2. 2. 890 ccm Vollmilch getrunken hatte (die es erhielt, weil es recht matt zu sein schien), wurde der Hund ganz aus dem Versuch ausgeschaltet.

Der bedeutende Drehungswinkel des Harns vom 1. 2. bis 2. 2. rührt sicherlich von einem Gehalt an Lactose her; der Harn war nämlich an dem Tag in hohem Grade mit Kot vermischt, worin man Klumpen von unverdauter Milch beobachten konnte.

Am 26. 1. wird die Kanüle herausgenommen, und gleichzeitig werden ca. 60 ccm Blut entnommen. Eisschrank.

Am 30. 1. werden ca. 25 ccm des ausgeschiedenen Serums mit ca. 45 ccm einer 10 $^0/_0$ igen Rohrzuckerlösung vermischt. 25 ccm dieser Mischung sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 5^0\,33'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird 60 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt.

Es werden wieder 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 5^0 33'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Wenn man auch, wie früher erwähnt, die Rohrzuckerprozentsätze des Harns bei Hunden, wenn man sehr genau sein soll, nicht gut miteinander vergleichen kann, so kann man doch wohl annehmen, daß jedesmal zur Ausspülung der Kiste ungefähr dasselbe Quantum Wasser verbraucht worden ist, und die Kurve dieser Prozentsätze wird daher wohl auch auf Interesse rechnen können. Man sieht wiederum hier eine Zunahme gleich am 2. Tag, darauf ein Verharren in ungefähr derselben Höhe und schließlich kurz nach Aufhören der Injektionen eine Abnahme bis auf 0.

Dem Tier wurden im ganzen ca. 248,57 g Rohrzucker injiziert, wovon ca. 165,62 g ausgeschieden wurden; zurückgehalten also ca. 82,95 g.

Das Tier verweilt dann im Stall und erholt sich vollständig.

Am 9. 2. wird es wieder zum Versuch herangezogen.

Versuch 2.

An diesem Tage wird in die rechte Vena jugularis, die stark gespannt ist, eine Kanüle eingeführt. Gleichzeitig werden ca. 60 ccm Blut entnommen und bis zum 11. 2. in den Eisschrank gestellt. Ca. 20 ccm des ausgeschiedenen Serums werden mit ca. 40 ccm einer $10^0/_0$igen Rohrzuckerlösung vermischt. 25 ccm der Mischung sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 5^0 40'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 38,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird 48 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt. Es werden wieder 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 5^0 41'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 37,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Tabelle VIII.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
9.—10. 2.	1800	0	1180	÷ Redukt.	0,00°	0	39,6—39,1
10.—11.	1300	25,09	1550	"	0,98 %	15,19	—
11.—12.	1275	25,37	1020	"	1,35 %	13,77	38,7—38,2
12.—13.	1250	24,50	830	"	1,43 %	11,87	38,8—38,6
13.—14.	875	13,39	910	"	1,32 %	12,01	38,2—38,6
14.—15.	0	0	400	"	0,00°	0	38,3—38,0
15.—16.	0	0	255	"	0,00°	0	38,4—38,6
16.—17.	0	0	350	"	0,00°	0	38,8—37,9
17.—18.	0	0	380	"	0,00°	0	38,7—38,5

Die Infusionsflüssigkeit ist dieselbe wie in der vorigen Versuchsreihe.

Am 14. 2. wird die Infusion eingestellt, da sie schlecht von statten geht und die Partie um die Wunde am Halse etwas feucht ist.

Das Tier hat an demselben Tag 88,35 g Rohrzucker erhalten, wovon 52,84 g ausgeschieden wurden; es hat somit eine sehr große Menge des injizierten Zuckers, nämlich über 40 %, zurückgehalten. Indessen ist die Serie ziemlich kurz, um daraus weitgehende Schlüsse ziehen zu können, und im übrigen ergibt ja ein Vergleich der beiden Tabellen, daß kaum vom einen Mal bis zum anderen eine Anpassung stattgefunden hat.

Hiernach wird dieser Hund nicht mehr zu diesen Versuchen benutzt.

Hund Nr. 4.

Gewicht 15,0 kg.

Am 4. 3. 1915 wird in die linke Vena jugularis behufs Infusion eine Kanüle eingeführt; im übrigen unter denselben Bedingungen wie oben.

Die Infusionsflüssigkeit besteht aus ca. 30 g Rohrzucker, 25 g Citrat in einer 0,9 %igen NaCl-Lösung gelöst ad 1500 ccm; wo kein Rohrzucker angegeben ist, ist es wie gewöhnlich die 0,9 %ige NaCl-Lösung.

Tabelle IX.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
3.—4. 3.	1300	0	1000	÷ Redukt.	0,00°	0	38,9—38,7
4.—5.	1275	24,48	1600	„	0,93 %	14,88	38,9—38,2
5.—6.	1275	25,63	1560	„	1,31 %	20,44	38,2—38,5
6.—7.	1200	23,76	830	„	1,55 %	12,87	38,7—38,3
7.—8.	1250	25,38	1610	„	1,50 %	24,15	38,4—38,5
8.—9.	1275	25,87	1350	„	1,55 %	20,93	38,8—37,6
9.—10.	1275	0	2175	„	0,33 %	7,18	37,8—37,5
10.—11.	1300	0	1010	„	0,08 %	0,81	37,5—37,4
11.—12.	1275	0	815	„	0,00°	0	38,1—37,9
12.—13.	1300	0	1560	„	0,00°	0	38,3—38,0

Am 13. 3. wird die Infusion ganz eingestellt. Die Kanüle bleibt vorläufig sitzen. Am 15. 3. werden dem Tier 10 ccm einer ca. 5 %igen Rohrzuckerlösung subcutan injiziert.

Am 16. 3. wird die Kanüle herausgenommen. An der Stelle nichts Abnormes. Gleichzeitig werden ca. 60 ccm Blut entnommen und bis zum 18. 3. in den Eisschrank gestellt.

Nun werden 20 ccm des ausgeschiedenen Serums mit ca. 40 ccm einer ca. 10 %igen Rohrzuckerlösung vermischt. Von der Mischung werden wie gewöhnlich 25 ccm sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 5^0 41'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 48,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird bei 37° 48 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt.

Die Untersuchung von 25 ccm ergibt:

Polarimetrisch: Drehungswinkel $= 5^0 42'$.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Am 8. 3. 1 Uhr nachm. wird die Kanüle in die rechte Vena jugularis eingeführt, da die Venenwand wie gewöhnlich etwas usuriert ist. Die innerste Lage des Verbandes war eben durch die Infusionsflüssigkeit feucht geworden.

Dem Tier wurden im ganzen 125,12 g Rohrzucker injiziert, wovon 101,26 g ausgeschieden wurden. Es hat somit ungefähr

20 % der injizierten Menge zurückgehalten, aber trotzdem ist im Blut kein Invertin nachzuweisen. Die Zuckerprozentsätze des Harns weisen dasselbe Verhältnis auf wie früher besprochen.

Derselbe Hund wird nun wieder bei Versuch Nr. 5 benutzt, indem die Kanüle in die Vena lienalis eingeführt wird, zunächst um zu untersuchen, ob die Verwertung bei der abgeänderten Injektionsweise eine bessere wird, und um zu sehen, ob indessen eine Anpassung eingetreten sein sollte.

Am 18. 3. wird in die Vena lienalis von

Hund Nr. 5
Gewicht 14,6 kg

eine Kanüle eingeführt.

Tabelle X.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
18.–19. 3.	1250	22,88	1360	÷ Redukt.	1,08 %	14,69	39,7–39,3
19.–20.	1225	23,89	675	"	1,31 %	8,84	38,2–38,3
20.–21.	1250	25,38	1930	"	1,43 %	27,60	38,8–38,1
21.–22.	1375	27,09	820	"	1,31 %	10,74	39,1–38,8
22.–23.	1300	26,39	1140	"	1,35 %	15,39	40,2–39,6
23.–24.	1300	0	1600	"	0,48 %	7,68	40,0–39,2
24.–25.	1300	0	1350	"	0,00°	0	38,9–38,1
25.–26.	1600	0	1180	"	0,00°	0	38,3–38,2
26.–27.	1000	0	1600	"	0,00°	0	38,8–38,5

Die Infusionsflüssigkeit ist ganz wie in der obenstehenden Reihe hergestellt, und die Bedingungen sind im ganzen dieselben.

Am 23. 3. zwischen 9 und 10 Uhr vorm. war die Verbindung zwischen dem Kanülenschlauchstück und dem übrigen Infusionsschlauch übergegangen. Dieses wurde um 10 Uhr entdeckt. Die während der Zeit eingelaufene Flüssigkeitsmenge beträgt höchstens 75 ccm und enthält ca. 1,5 g Rohrzucker. Dieses Quantum kann teils in den Harn abgelaufen, teils vom Hunde aufgeleckt worden sein, der eifrig damit beschäftigt war, den Boden des Kastens abzulecken. Im ersten Falle hat dieser Unfall beim Vergleich der aufgenommenen und ausgeschiedenen Menge nichts zu sagen. Im zweiten Falle ergibt sich ein Fehler, der jedoch keinesfalls 1,5 g übertrifft.

Am 26. 3. stellen sich bei der Infusion Unregelmäßigkeiten

ein, die Kanüle scheint aber dicht, und die Instillation wird daher ruhig fortgesetzt. Es werden während des ganzen Versuches 125,63 g Rohrzucker injiziert, wovon 84,94 g ausgeschieden wurden; das Tier hat somit zwischen 32 und 33% der aufgenommenen Menge zurückgehalten.

Ein Vergleich dieser Serie mit der vorigen ergibt, daß die Rohrzuckerprozentsätze des Harns in dieser Serie kaum so hoch ansteigen. Wenn man auch wegen des oben in betreff der Wasservermischung Angeführten mit Recht diesem Verhältnis keine besondere Bedeutung beimessen will, so kann man doch nicht leugnen, daß das Tier dieses Mal eine größere Menge zurückgehalten hat als das vorige Mal.

Ob dieses indessen von einer Anpassung oder von der abgeänderten Injektionsmethode oder vielleicht von ganz anderen Verhältnissen herrührt, wage ich nicht zu entscheiden. Es hätte bei Beendigung des Versuches Blut zur Untersuchung entnommen werden sollen, was aber verschiedener Verhältnisse wegen (ich mußte verreisen, und bei meiner Rückkehr war das Tier gestorben) nicht stattfand.

Einzelne der folgenden Hunde konnten die Injektionen gar nicht ertragen. Dies gilt z. B. von einem jungen Pudel (12,5 kg). Ich werde auf diese Hunde nicht näher eingehen und nur ganz kurz von dem genannten Pudel sprechen.

Es wurden mehrere Versuche mit permanenter Infusion angestellt; sobald die Flüssigkeit aber Rohrzucker enthielt (nicht über 1%), schwollen jedesmal sämtliche Speicheldrüsen, Orbitalglandeln usw. an. Das Tier wollte dann nicht fressen, nur etwas Wasser trinken; trotz reichlicher Diurese schied es nur ein wenig von der injizierten Zuckermenge aus (der Prozentsatz übertraf nie 0,80%).

Nach 2 bis 3 bis 4 Tagen permanenter Rohrzuckerinjektion wog das Tier in der Regel zwischen 2 und 3 kg mehr als zu Anfang des Versuches.

Selbstverständlich fand sich Albumin im Harn.

Hund Nr. 8.

Gewicht 12,1 kg.

Dieser Hund bekommt subcutane Injektionen, jedesmal 100 ccm. Die Injektionen fanden statt an 5 verschiedenen

Stellen des Rückens, jedesmal mit einer kalibrierten 20 ccm-Rekordspritze, und zwar um eine gar zu starke Sprengung der Subcutis zu vermeiden, die sich bei einer Injektion des ganzen Quantums an einer Stelle ergeben würde.

Die injizierten Mengen waren nun auch immer nach 24 Stunden verschwunden, und es wurde nie eine Infiltration noch Absceßbildung beobachtet.

Die Stärke der injizierten Lösungen wurde wie gewöhnlich für jeden Tag polarimetrisch bestimmt. Wo in der Tabelle kein Rohrzucker der Injektionsflüssigkeit angegeben ist, ist es die 0,9 %ige NaCl-Lösung.

Tabelle XI.

Datum	injiziert ccm	Rohrzucker injiziert g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Rohrzucker ausgeschieden g	Temperatur °
14.–15. 4.	100	0	1510	÷ Redukt.	0,00°	0	—
15.–16.	100	16,19	1740	"	0,65 %	11,31	37,4
16.–17.	100	13,93	1150	"	0,98 %	11,27	38,3–38,2
17.–18.	100	14,00	1840	"	0,52 %	9,57	38,5
18.–19.	100	13,87	1460	"	0,83 %	12,12	38,1
19.–20.	100	14,19	1400	"	0,75 %	10,50	38,3
20.–21.	0	0	1380	"	0,00°	0	38,1–38,0
21.–22.	0	0	1730	"	0,00°	0	38,0
22.–23.	0	0	1650	"	0,00°	0	37,9

Dem Tier wurden im ganzen 72,18 g Rohrzucker injiziert, wovon 54,77 g ausgeschieden wurden; es wurden also ca. 24 % der injizierten Menge zurückgehalten. Auch die subcutane Injektionsmethode ergibt also eine nicht geringe Retention von Rohrzucker. Trotzdem findet sich im Blut kein Invertin.

Am 24. 4. wird das Tier aus der Kiste herausgenommen.

Am 26. 4. werden wieder 100 ccm einer ca. 15 %igen Rohrzuckerlösung subcutan injiziert.

Am 27. 4. und 28. 4. dieselbe Gabe. Abendtemperatur an den genannten Tagen bzw. 37,0 und 38,2°.

Am 29. 4. werden dem Tier ca. 90 ccm Blut in gewöhnlicher Weise entnommen. Im Eisschrank bis zum 1. 5., wo das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10 %igen Rohrzuckerlösung vermischt wird.

Von der Mischung werden 25 ccm sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 10′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 35,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wird bei 37° 72 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt.

Die Untersuchung von 25 ccm ergibt:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 14′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 37,00 ccm Hydroxylaminlösung.

Wie mehrmals zuvor, sieht man auch hier nach 72stündigem Aufenthalt im Thermostaten eine ganz geringe Vergrößerung des Drehungswinkels. Dies läßt sich jedenfalls nicht in der Richtung einer Bildung von Invertzucker deuten, und die natürlichste Erklärung wäre wohl die, daß während des langen Aufenthaltes im Thermostaten etwas Flüssigkeit verdampft ist. Also findet man auch in diesem Falle kein Invertin.

Hund Nr. 11.

Gewicht 12,4 kg.

Am 12. 5. 1 Uhr nachm. wird in die linke Vena jugularis eine Kanüle eingeführt. Der Zweck dieser Serie war, zu untersuchen, ob die Eingabe einer Flüssigkeit eines verhältnismäßig geringen Rohrzuckerprozentsatzes der Größe, wie Hunde sie erfahrungsmäßig mit Leichtigkeit auszuscheiden vermögen, bewirken sollte, daß die ganze injizierte Menge mit dem Harn ausgeschieden würde.

Tabelle XII.

Datum	Einlauf ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Ausgeschied. Rohrzucker g	Temperatur °
12.–13. 5.	1300	0	1080	÷ Redukt.	0,00°	0	38,6–37,6
13.–14.	1300	0	1240	„	0,00°	0	38,4–38,0
14.–15.	1300	7,80	1080	„	0,56 %	6,05	38,5–37,7
15.–16.	1250	8,13	1660	„	0,60 %	9,96	38,3–38,4
16.–17.	1275	8,29	1240	„	0,60 %	7,44	37,9–37,7
17.–18.	1225	8,70	1430	„	0,51 %	7,29	37,4–37,6
18.–19.	1250	8,75	1750	„	0,39 %	6,83	38,5–37,4
19.–20.	1300	0	1210	„	0,18 %	2,18	37,9–37,6
20.–21.	1300	0	1250	„	0,00°	0	38,3–37,5
21.–22.	1300	0	1460	„	0,00°	0	38,3–37,4

Die Infusionsflüssigkeit bestand vom 14. 5. bis 19. 5. aus ca. 10 g Rohrzucker, 20 g Natriumcitrat, in einer 0,9%igen NaCl-Lösung ad 1500 ccm gelöst. Betrachtet man die obenstehenden Rohrzuckerprozentsätze des Harns, so sieht man das merkwürdige Verhältnis, daß der Prozentsatz des Harns, obschon die Infusionsflüssigkeit konstant erhalten wird, abnimmt, welche Abnahme jedoch teilweise durch eine gesteigerte Diurese aufgehoben wird. Indessen pflegt dieses nicht stattzufinden, und man könnte vielleicht mit einiger Wahrscheinlichkeit in diesem Falle erwarten, Invertin im Blute zu finden.

Daher werden dem Tiere am 19. 5 4 Uhr nachm. ca. 80 ccm Blut entnommen und bis zum 20. 5. in den Eisschrank gestellt, worauf das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10%igen Rohrzuckerlösung vermischt wurde.

25 ccm der Mischung sofort untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 17′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Der Rest wurde 48 Stunden in den Thermostaten (Toluol) gestellt.

Es wurden wieder 25 ccm untersucht:

Polarimetrisch: Drehungswinkel = 5° 17′.

Durch die Bangsche Titrierung: verbraucht 49,50 ccm Hydroxylaminlösung.

Also doch kein Invertin.

Dem Tiere wurden im ganzen 41,67 g Rohrzucker injiziert, wovon 39,75 g ausgeschieden wurden; es hat also weniger als 5% der injizierten Menge zurückgehalten. Dies scheint in der oben angegebenen Richtung zu deuten, wenn in diesem Falle auch nicht die ganze Menge ausgeschieden worden ist.

Kaninchen 0.

Gewicht 2,6 kg.

Wird am 9. 6. 1915 im Käfig angebracht, erhält Wasser zu trinken, Hafer zu fressen.

Die Injektionen finden ganz langsam statt mittels einer 50 ccm-Rekordspritze auf einmal in eine Ohrenvene.

Tabelle XIII.

Datum	Injiziert ccm	Rohrzucker eingegeben g	Diurese ccm	Bang	Rohrzucker oder Drehungswinkel	Ausgeschiedener Rohrzucker g
10.–11. 6.	0	0	60	÷Redukt.	0,00°	0
11.–12.	50	0	118	„	0,00°	0
12.–13.	50	0	60	„	0,00°	0
14.–15.	50	9,16	168	„	4,89 %	8,22
15.–16.	50	9,37	160	„	5,74 %	9,18
16.–17.	50	9,20	168	„	5,23 %	8,79
17.–18.	50	9,53	144	„	5,76 %	8,29
18.–19.	50	9,27	190	„	5,11 %	9,71
19.–20.	50	0	122	„	0,00°	0
20.–21.	0	0	90	„	0,00°	0
21.–22.	0	0	70	„	0,00°	0

Man sieht nun die Zuckerprozentsätze des Harns gewöhnlich sofort nach der ersten Injektion ansteigen, und zwar hier bis zu einer ungewöhnlichen Höhe.

Das Tier hat denn auch nur ca. 5 % der injizierten Menge zurückgehalten, indem im ganzen 46,53 g Rohrzucker eingegeben und 44,19 g wieder ausgeschieden wurden.

Am 19. 6. nachm. wurden einer Ohrenvene ca. 20 ccm Blut entnommen. Eisschrank bis zum 21. 6. An diesem Tage wird das ausgeschiedene Serum zu gleichen Teilen mit einer ca. 10 %igen Rohrzuckerlösung gemischt und nach der modifizierten Bangschen Mikromethode titriert:

Sofort 0,030 % Zucker.

Nach 48stündigem Aufenthalt im Thermostaten (Toluol) 0,033 % Zucker.

Also auch hier kein Invertin nachweisbar.

Zusammenfassung.

I. Bei subcutanen, intravenösen und permanent intravenösen Rohrzuckerinjektionen hält der Organismus der meisten hier untersuchten Tiere (Ziegenböcke, Hunde und Kaninchen) schwankende Rohrzuckermengen zurück, die bei großen Gaben bis auf ca. 40 % der injizierten Menge ansteigen können. Bei einzelnen Tieren (Schafen, Ferkeln) wurde die injizierte Zuckermenge im Harn wiedergefunden.

II. Bei Injektion von großen Rohrzuckermengen werden

die Nieren beschädigt, was möglicherweise für die in einigen Fällen beobachteten großen Retentionen von Bedeutung ist.

III. Eine Anpassung an Rohrzucker bei Zusatz von großen Mengen dieses Stoffes zum täglichen Futter des Tieres scheint für das Vermögen des Tieres, Rohrzucker bei parenteraler Injektion zurückzuhalten, keine Rolle zu spielen.

IV. In keinem Falle gelang es mir, bei den mit Rohrzucker parenteral behandelten Tieren Invertin im Blute nachzuweisen.

Über Harnstoffbildung in der isolierten Warmblüterleber[1].

Von

Wilhelm Löffler (Basel).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 19. April 1916.)

Obgleich lange bekannt ist, daß die Aminosäuren Vorstufen des Harnstoffs im weiteren Sinne darstellen, besteht noch immer Ungewißheit über die Reaktionen, die in der Leber ihren Übergang in Harnstoff vermitteln. Es gibt noch heute im wesentlichen drei Theorien über den Reaktionsverlauf. Die Anhydrierungstheorie Schmiedebergs[2] nimmt Ammoniak als unmittelbare Vorstufe an. Ammoniumcarbonat oder nach Drechsel[3] Ammoniumcarbamat gehen unter Wasserabspaltung in Harnstoff über. Nach der Anschauung Salkowskis[4] und Hoppe-Seylers[5] wäre ebenfalls NH_3 die eine Vorstufe, die sich wie bei der Wöhlerschen Synthese mit Cyansäure zu Harnstoff vereinigt: $NH_3 + CONH = CO(NH_2)_2$. Die Reaktion im Sinne Schmiedebergs erfolgt auch, allerdings erst bei 130 bis 140° unter hohem Druck, im Einschlußrohr. Die Verbindung von NH_3 mit Cyansäure erfolgt auch außerhalb des Körpers leicht bei 37° in wässeriger Lösung, doch ist der Nachweis der Cyansäure im Organismus nicht gelungen. Hofmeisters[6] Versuche, Cyansäure in der Leber nachzuweisen, hatten ein durch-

---

[1] Aus äußeren Gründen gelangt die schon vor 2 Jahren fertiggestellte Arbeit erst jetzt zur Veröffentlichung.

[2] Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 8, 1.

[3] Drechsel, Ber. d. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch. 5, 171, 1875.

[4] Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 26.

[5] Hoppe-Seyler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 7, 34.

[6] Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 37, 426.

aus negatives Ergebnis. Auch gelang es nicht, bei mit NH_3 vergifteten Tieren durch Zufuhr von Natriumcyanat die Vergiftung zu beheben. Auf Grund seiner Untersuchungen über die Oxydation zahlreicher stickstoffhaltiger und stickstofffreier Körper in ammoniakalischer Lösung bei 40° durch Kaliumpermanganat und das häufige Auftreten von Harnstoff als Reaktionsprodukt faßt Hofmeister die Harnstoffbildung als oxydative Synthese auf, indem „einerseits ein durch Oxydation entstandener, die Amidgruppe enthaltender Rest NH_2CO-, andererseits ein durch Oxydation des Ammoniaks entstandener — NH_2-Rest im Entstehungszustande zusammentreten.“ Hofmeisters Versuche in vitro sind unter Bedingungen ausgeführt, die denen im Organismus einigermaßen entsprechen.

Die Liste der als Harnstoffbildner erkannten Körper wurde durch Eppinger [1]) noch beträchtlich erweitert. Es erwiesen sich als besonders gute Harnstoffbildner Glykokoll, Asparaginsäure, Asparagin, Eieralbumin, Cyanwasserstoff, Rhodanwasserstoff, Methylalkohol, Milchsäure. Da bei der angegebenen Versuchsanordnung eine Anhydrierung ausgeschlossen ist, kann die Harnstoffbildung nur durch Oxydation erfolgen. Bemerkenswert ist, daß neben Harnstoff in vielen Fällen auch Oxaminsäure auftritt; allerdings geht die Bildung beider Körper nicht parallel, und einzelne reichlich Oxaminsäure liefernde Verbindungen lassen keine Harnstoffbildung erkennen. Oxaminsäure sowie Formamid gehen unter den angegebenen Bedingungen in Harnstoff über. Es ist dies von Interesse im Hinblick auf die elektrolytische Harnstoffsynthese, die von Fichter, Stutz und Grieshaber [2]) beschrieben worden ist, und bei der Formamid als Zwischenprodukt angenommen wird. Der Übergang von Ammoniumcarbaminat in Harnstoff bei Gegenwart von NH_3 verläuft nach den Autoren in folgender Weise: NH_3 wird oxydiert zu Hydroxylamin. Das Carbaminat wird durch Hydroxylamin zu Formamid reduziert, letzteres wird in Gegenwart von Ammoniak zu Harnstoff oxydiert. Es wäre bestechend, für die vitale Harnstoffbildung einen analogen Vorgang anzunehmen. Neben Cyansäure und Ammoniak sind Oxaminsäure

[1]) Eppinger, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 481.

[2]) Fichtner, Stutz und Grieshaber, Verhdlg. d. Naturf.-Ges. Basel, 23, 222.

und Formamid, deren Überführbarkeit in Harnstoff erwiesen ist, nach Hofmeister die einfachsten stickstoffhaltigen Verbindungen, die als unmittelbare Vorstufen des Harnstoffs in Betracht gezogen werden müssen. Nun tritt aber Oxaminsäure nicht nur bei der Oxydation von harnstoffbildenden Substanzen auf, sondern konnte von Halsey[1]) in Oxydationsversuchen nach Hofmeister in reichlichen Mengen aus Traubenzucker und aus Glycerin gewonnen werden, aus denen kein oder nur sehr wenig[2]) Harnstoff erhalten werden kann. Auch liefern eine ganze Anzahl Substanzen, z. B. Glykokoll, Asparaginsäure, Milchsäure, viel mehr Harnstoff als die äquivalente Menge Oxaminsäure. Dem Entstehen von Oxaminsäure in den Oxydationsversuchen, bzw. bei der physiologischen Harnstoffbildung, kann also nur der Wert einer Nebenreaktion zukommen, indem höchstens ein Teil des gebildeten Harnstoffs über Oxaminsäure entsteht. In Halseys Versuchen mit Verfütterung von Äthyloxaminsäure und von Formamid am Hunde konnte keine Ausscheidung von Äthylharnstoff oder Mehrbildung von Harnstoff festgestellt werden. Formamid lieferte ebenso viel Ameisensäure wie eine entsprechende Menge Natriumformiat. Diese beiden Verbindungen gehen also im Körper nicht mit der Leichtigkeit in Harnstoff über, wie es von unmittelbaren Vorstufen im Organismus gefordert werden müßte.

Der Übergang einiger Aminosäuren in Harnstoff erfolgt nun in vitro sowohl, wie bei Fütterungs-[3]), Injektions-[4]) und Durchströmungsversuchen[5]) anscheinend leicht und reichlich.

Nencki und Schultzen[6]) hatten den Nachweis erbracht, daß verfüttertes Leucin und Glykokoll in Harnstoff übergehen. Salkowski[7]) zeigte dasselbe für Sarkosin und Alanin; Knieriem[8]) endlich für Asparaginsäure. Für eine Reihe dieser Körper, so für Glykokoll, Leucin und Asparaginsäure erbrachte

[1]) Halsey, Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 325.
[2]) Eppinger, a. a. O. S. 491.
[3]) Levene und G. M. Meyer, Amer. Journ. of Physiology. — Abderhalden, Furno, Goebel und Strübel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 481 bis 504.
[4]) Stolte, l. c.
[5]) Salaskin, l. c.
[6]) Nencki und Schultzen, Zeitschr. f. Biol. 8, 124.
[7]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 100.
[8]) Knieriem, Zeitschr. f. Biol. 10, 163.

Salaskin[1]) in Durchströmungsversuchen an der Hundeleber den Beweis, daß ihre Umwandlung in Harnstoff gleich wie die der Ammoniumsalze in der Leber erfolgt. Stolte[2]) verfolgte das Schicksal intravenös injizierter Monoaminosäuren und fand, daß Glykokoll und Leucin sehr leicht in Harnstoff übergehen. Der Übergang von Alanin, Asparaginsäure und Glutaminsäure in Harnstoff schien weniger leicht zu erfolgen. Ein analoges Verhalten kommt dem Cystin zu, das nach Blum[3]) bei Injektion in eine periphere Vene zu Cystinurie führt, bei Einführung in eine Mesenterialvene dagegen vollständig zerstört wird. Tyrosin und Phenylalanin ergaben unter den Versuchsbedingungen Stoltes keine sichere Harnstoffvermehrung im Urin.

Auf Anregung von Herrn Professor Hofmeister unternahm ich es neuerdings, eine Reihe von Aminosäuren auf ihr Harnstoffbildungsvermögen in der überlebenden durchbluteten Säugetierleber zu prüfen, um Anhaltspunkte zu gewinnen, ob es sich bei diesem Prozesse um eine allen diesen Körpern gemeinsame Reaktion handle.

Dabei war auch an die Entstehung von Uraminosäuren zu denken. Ihre Bildung im Organismus hatte Schultzen[4]) bei Verfütterung von Sarkosin entdeckt, ein Befund, der von Salkowski[5]) für Taurin bestätigt worden ist. Auch nach Überschwemmung des Organismus mit Tyrosin fanden Blendermann[6]) und Dakin[7]) die entsprechende Uraminosäure im Harn. In Durchströmungsversuchen an der Hundeleber machte dann Philosophow[8]) die Bildung der Taurocarbaminsäure bei Zusatz von Taurin + Glykokoll zum Blute wahrscheinlich, während es Lippich[9]) nicht gelang, durch Einwirkung von Hundeleberextrakt auf Leucin und Guanidincarbonat oder auf Leucin und Amylurethan die entsprechende Uraminosäure zu erhalten.

Zur Methodik. Als Versuchstiere dienten Hunde, die

[1]) Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 25, 128 bis 151.
[2]) Stolte, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 15.
[3]) Blum, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 1.
[4]) Schultzen, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 5, 578.
[5]) Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 6, 744 u. 1312.
[6]) Blendermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 234.
[7]) Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 8, 25.
[8]) Philosophow, diese Zeitschr. 26, 131.
[9]) Lippich, Zeitschr. f. physiol. Chem. 68, 277.

48 bis 72 Stunden vor dem Versuch gehungert hatten. Sie wurden mit Äther narkotisiert und durch Entbluten aus den Carotiden getötet. Die Leber wurde in situ mit Kanülen in der Vena portae und Vena hepatica versehen, alle übrigen Gefäße wurden abgebunden. Zur Durchblutung, die durchschnittlich 10 Minuten nach dem Tod des Tieres begann, wurde die Leber in eine auf 40° erwärmte, feuchte Kammer gebracht. Die Versuche dauerten meist 2 Stunden.

Als Durchblutungsflüssigkeit dienten in der Regel 1 bis 1,5 Liter defibriniertes und koliertes Rinderblut. Die Substanz, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, wurde allmählich in den Arterialisator des verbesserten Mandelschen Durchblutungsapparates (Freise[1]) eingegossen, um eine möglichst gute Verteilung auf die ganze Blutmenge zu erzielen. Die Temperatur der Leber und des Blutes wurde auf 39 bis 40° gehalten. Der Druck in der Vena portae betrug zu Beginn des Versuches 20 bis 30 mm Hg; in gut gelungenen Versuchen hielt er sich nahezu auf dieser Höhe; nicht selten wurde in der zweiten Stunde eine Druckerhöhung notwendig, die gelegentlich 60 bis 80 mm Hg erreichte. Das Blut gelangte gut arterialisiert durch die Vena portae in die Leber und floß stark venös gefärbt in kontinuierlichem Strahl oder rasch tropfend aus der Lebervene aus. Die in der Minute aus der Leber fließende Blutmenge erreichte in guten Durchblutungen 150 ccm; mitunter blieb jedoch das Minutenvolumen erheblich hinter dieser Zahl zurück. Zum Schluß wurde das Blut ausgepumpt und der ganze Apparat mit je 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung 3 mal ausgespült. Auf diese Weise konnte das ursprünglich zugesetzte Blut, abzüglich des in der Leber zurückgehaltenen, praktisch quantitativ wiedergewonnen werden.

Das Blut, oder ein aliquoter Teil davon, wurde in das 4- bis 5 fache Volumen 95 %igen Alkohols gegossen und 18 bis 20 Stunden stehen gelassen, das Flüssigkeitsvolumen genau gemessen, filtriert und ein abgemessenes Volumen des hellgelben, klaren Filtrates als aliquoter Teil weiter verarbeitet. Das alkoholische Filtrat wurde im Luftschacht bei 25 bis 30° zur Trockne eingeengt und im wesentlichen zur Bestimmung des Harnstoffs nach der Schöndorffschen[2]) Modifikation des Verfahrens von Pflüger-Bleibtreu[3]) verarbeitet.

Die Trockenrückstände wurden mit Wasser aufgenommen, auf einen Gehalt von annähernd 2 % HCl gebracht, mit Phosphorwolframsäure (9 Vol. 10 %ige Lösung + 1 Vol. Salzsäure vom spez. Gew. 1,124) gefällt.

[1]) Freise, diese Zeitschr. 56, 1913.
[2]) Schöndorff, Arch. f. d. ges. Physiol. 62, 1, 1896.
[3]) Pflüger-Bleibtreu, ebenda 44, 78, 1889.

Das Reagens bewirkte in Harnstofflösungen von 2 bis 4% keine Trübung, fällte jedoch Spuren von Ammoniak. Nach 18- bis 24 stündigem Stehen wurde der Niederschlag abfiltriert, mit salzsäurehaltigem Wasser gewaschen und das Filtrat, je nach der verarbeiteten Blutmenge, auf 1000, 500 oder 250 ccm gebracht. Je 100 oder 50 ccm der Flüssigkeit wurden mit pulverisiertem Calciumhydroxyd alkalisch gemacht und nach dem Verschwinden der blaugrünen Farbe in 10 bis 20 g krystallisierte Phosphorsäure enthaltende Kjeldahlkolben filtriert und nachgewaschen. Die Kolben wurden nach völligem Verdunsten des Wassers 4½ bis 5 Stunden auf 140 bis 145° erhitzt. Hierauf wurde die sirupöse Masse in warmem Wasser gelöst, die Flüssigkeit bis zu nur noch schwach saurer Reaktion mit Natronlauge versetzt, ein Überschuß an frisch geglühter Magnesia zugefügt, nach reichlichem Zusatz von Siedesteinen nebst etwas Paraffinum liquidum das Ammoniak abdestilliert und dieses mittels Methylrot austitriert.

Später benutzte ich mit Vorteil die von Benedict und Gebhardt[1]) angegebene und von Levene und Meyer[2]) modifizierte Methode der Harnstoffbestimmung.

Das Blut wurde wie oben beschrieben verarbeitet. Das Filtrat vom Phosphorwolframsäure-Niederschlag, das im wesentlichen den Harnstoff und die Aminosäuren enthält, wird unter Zusatz von Schwefelsäure 1½ Stunden bei 150° im Autoklaven erhitzt. Diese Modifikation hat den großen Vorteil, daß die nachfolgende Destillation des Ammoniaks unter Magnesiaüberschuß sehr leicht erfolgt; besonders entfällt das lästige Stoßen, das bei der vorher mit Phosphorsäure hydrolysierten Flüssigkeit sehr heftig ist.

Alle in den Versuchen verwendeten Aminosäuren wurden noch besonders daraufhin geprüft, ob nicht etwa bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure (auf 50 ccm Flüssigkeit 1,7 ccm H_2SO_4 konz.) unter den obigen Bedingungen Ammoniak oder Amine abgespalten würden. In keinem Falle konnte die Bildung alkalischer Destillationsprodukte nachgewiesen werden, mit Ausnahme der Asparaginsäure, von der 0,25 g 0,68 mg NH_3 lieferten (wohl durch Verunreinigung mit Asparagin bedingt).

Die Wahl der Magnesia[3]) statt der Natronlauge, zur Alkalisierung vor der Destillation ergab sich aus der Erwägung, daß bei dem lange dauernden Kochen, bei dem sich die Lauge stark konzentriert, doch etwas Ammoniak oder Amine aus andern noch vorhandenen N-Verbindungen oder aus den Aminosäuren abgespalten werden könnten. Bei Magnesiazusatz erfordert die Destillation des Phosphorsäure-Hydrolysates

---

[1]) Benedict und Gebhardt, Journ. Am. Chem. Soc. 30, 1760.
[2]) Levene und Meyer, Journ. Am. Chem. Soc. 31, 717.
[3]) Pfaundler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 75.

beträchtliche Zeit. Zur Austreibung der letzten Ammoniakreste muß wiederholt das Wasser im Kolben erneuert werden; dann erfolgt sie aber quantitativ. Eine Harnstofflösung enthielt nach der Kjeldahlbestimmung berechnet 78,64 mg Harnstoff; dieselbe Lösung ergab nach Hydrolyse mit Phosphorsäure und Destillation unter Magnesiazusatz 78,40 mg Harnstoff.

Zum Nachweis etwa gebildeter Uraminosäuren wurde trotz negativer Angaben in der Literatur der Versuch gemacht, Naphthalinsulfoprodukte dieser Säuren darzustellen. Anhaltspunkte für eine Uraminosäurebildung wurden nicht gewonnen.

Vorversuche im hiesigen Institut hatten in einzelnen Fällen eine Verbindung geliefert, die ihrer Zusammensetzung nach das Naphthalinsulfoprodukt der Hydantoinsäure sein konnte. Zum Nachweis ist sie jedoch nicht geeignet. Nach Lippich[1]) aus Glykokoll und Harnstoff dargestellte Hydantoinsäure wurde nach der Vorschrift E. Fischers[2]) mit Naphthalinsulfochlorid bei verschieden stark alkalischer Reaktion der Lösung geschüttelt. In keinem Falle konnte eine schwerlösliche Naphthalinsulfoverbindung erhalten werden, wie dies übrigens schon von Lippich erwähnt worden ist.

Deshalb wurde zum Nachweis der Uraminosäuren das Verfahren von Mörner-Sjöqvist[3]) angewandt, bei dem die Uraminosäuren durch die ätzbarythaltige Bariumchloridlösung gefällt und durch die Ätheralkoholmischung, in der sich der Harnstoff löst, von letzterem getrennt werden. Entstandene Uraminosäuren müßten sich aus der Barytfällung isolieren lassen. Außerdem müßte bei merklicher Bildung von Uraminosäuren der Wert nach Mörner-Sjöqvist hinter dem nach Schöndorff erhaltenen beträchtlich zurückbleiben.

In einer Reihe von Durchströmungen wurde versucht, den Harnstoff aus dem mit Baryt zersetzten Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag durch Quecksilbernitrat zu fällen; nach Zersetzung des Quecksilberniederschlages mit Schwefelwasserstoff wurde stets ein gelblicher Sirup erhalten, der sehr langsam krystallinisch erstarrte, die Harnstoffreaktionen gab, aber nie schöne Harnstoffkrystalle abschied.

Da die Harnstoffanalysen unter den vorliegenden Versuchsbedingungen stets in Flüssigkeiten ausgeführt wurden, die mehr oder weniger reichlich Aminosäuren enthielten, wurden Vergleichsversuche ausgeführt an Blut, das mit einer bekannten

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 2953; 41, 2953 u. 2974.
[2]) Biochem. Arbeitsmethoden 4, 1320.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 7. Aufl., S. 429.

Menge Harnstoff und solchem, das außer mit Harnstoff mit einer gegebenen Menge Glykokoll versetzt worden war.

Kontrollversuch 1.

Harnstoffgehalt von 100 ccm Blut mit Harnstoffzusatz . 80,63 mg
Harnstoffzusatz pro 100 ccm Blut . . . . 52,25 mg
Danach präformierter Harnstoff in 100 ccm Blut . . . 28,38 mg
Harnstoff präformiert bei direkter Bestimmung in 100 ccm Blut . . . . 30,40 mg
Differenz pro 100 ccm . . . . — 2,02 mg

Kontrollversuch 2.

Harnstoffgehalt von 100 ccm Blut mit Harnstoffzusatz . 75,0 mg
Harnstoffzusatz pro 100 ccm Blut . . . . 48,3 mg
Danach präformierter Harnstoff in 100 ccm Blut . . . 26,7 mg
Harnstoff präformiert bei direkter Bestimmung . . . . 25,3 mg
Differenz pro 100 ccm . . . . + 1,4 mg

Kontrollversuch 3.

Das Blut wurde mit Harnstoff und 0,5 g Glykokoll versetzt.
Harnstoffgehalt von 100 ccm Blut mit Harnstoffzusatz . 83,39 mg
Harnstoffzusatz pro 100 ccm Blut . . . . 52,25 mg
Danach präformiert in 100 ccm Blut . . . . 31,14 mg
Harnstoff präformiert bei direkter Bestimmung . . . . 30,40 mg
Differenz pro 100 ccm . . . . + 0,74 mg

Durchblutungsversuche.

I. Harnstoffbildung aus Ammoniumsalzen.

Zur Orientierung über den Umfang der Harnstoffbildung in der Leber unter den von mir eingehaltenen Versuchsbedingungen wurde eine Anzahl von Versuchen unter Zusatz von Ammoniumsalzen vorgenommen.

Versuch 1.

Kaninchen.
Das Tier hatte 4 Tage vor dem Versuch gehungert.
Leber 65 g.
Durchströmungsflüssigkeit 1 l Kalbsblut.
Dauer 2 Stunden.
Zusatz von 20 ccm Ammoniumlactatlösung entsprechend 0,87 g NH_3.
In 100 ccm Kontrollblut . . . . 33,5 mg Harnstoff.
In 100 ccm Durchströmungsblut . . . . 42,9 mg „
Zunahme pro 100 cm . . . . 9,4 mg „
Gesamtzunahme . . . . 94,0 mg „

Die absolute Menge des neugebildeten Harnstoffs ist zwar nicht unbeträchtlich, doch ist die Zunahme pro 100 ccm Blut relativ gering. Um bedeutendere Ausschläge zu erhalten, erschien es angezeigt, die größere Hundeleber zu verwenden, um so mehr als die Fähigkeit der Harnstoffbildung in einer Fleischfresserleber ein Maximum erwarten ließ.

Versuch 2.

Hund.

Die 115 g schwere Leber eines ausgewachsenen Hundes wurde mit 1100 ccm Kalbsblut durchströmt.

Dauer 2 Stunden.

Das Tier hatte 36 Stunden vor dem Versuch gehungert.

Dem Blute wurde zu Beginn des Versuches Ammoniumcarbonat zugesetzt, so daß es 27,4 mg NH_3 und 45,5 mg Harnstoff in 100 ccm enthielt.

Neben der Harnstoffzunahme wurde die Abnahme des NH_3 nach Spiro[1]) bestimmt.

	NN_3	Harnstoff
100 ccm Kontrollblut enthielten .	0,86 mg	45,5 mg
100 ccm Blut zu Beginn d. Versuchs	27,27	45,5 mg
100 ccm Blut nach einmaliger Passage d. L.	23,14	—
100 ccm nach 2 Stunden Durchströmung	4,48	90,5 mg
NH_3-Abnahme	22,79 mg	45,0 mg Harnstoffzunahme

Es ergibt sich also aus Ammoniumcarbonat eine sehr beträchtliche Harnstoffneubildung, während der größte Teil des zugesetzten NH_3 aus dem Blute verschwindet. Die Harnstoffbildung ist etwas größer als nach der verbrauchten NH_3-Menge zu erwarten wäre (aus 22,79 mg NH_3 könnten sich 40,2 mg Harnstoff bilden), doch ist der Überschuß nicht groß genug, um Schlüsse über diese Mehrausbeute zu erlauben. W. v. Schröder hat bereits in seiner grundlegenden Arbeit[2]) (Versuch 6) die Wahrnehmung gemacht, daß bei der Durchströmung einer Hundeleber mit Ammoniumformiat reichlicher Harnstoff gebildet wird als der zugesetzten Substanz entspricht.

Ganz beträchtliche Harnstoffbildung erhielt v. Schröder,

---

[1]) Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 481.

[2]) W. v. Schröder, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 15, 364, 1882.

wenn er die Leber eines gut gefütterten, in Verdauung befindlichen Tieres ohne weiteren Zusatz durchblutete. Um die Dauer des Fastens, die nötig ist, um merkliche Harnstoffbildung aus in der Leber vorgebildeten Stoffen auszuschließen, wurden folgende Versuche ausgeführt:

Versuch 3.

Kleines Kaninchen.
Leber 53,5 g.
4 Tage Hunger vor dem Versuch.

100 ccm Kontrollblut enthielten	34,3 mg Harnstoff
100 cm Durchströmungsblut enthielten	35,9 mg „
Neugebildet pro 100 ccm	1,6 mg Harnstoff

Versuch 4.

Mittelgroßer, ausgewachsener Hund.
Das Tier hatte 4 Tage vor dem Versuch gehungert.
Leber 287 g.
Durchströmung 2 Stunden.

100 ccm Kontrollblut enthielten	25,5 mg Harnstoff
100 ccm Durchströmungsblut enthielten . . .	28,6 mg „
Neugebildet pro 100 ccm	3,1 mg Harnstoff

Versuch 5.

Mittelgroßer ausgewachsener Hund.
Das Tier hatte 3 Tage vor dem Versuch gehungert.
Leber 400 g.
Durchströmung 2 Stunden.

100 ccm Kontrollblut enthielten	24,0 mg Harnstoff
100 ccm Durchströmungsblut enthielten . . .	26,3 mg „
Neugebildet pro 100 ccm	2,3 mg Harnstoff

In allen drei Fällen hat keine nennenswerte Harnstoffneubildung stattgefunden; eine Hungerperiode von drei Tagen ist demnach völlig genügend.

Daß die Anreicherung des Blutes an Harnstoff bei Verwendung der Leber eines verdauenden Tieres ganz beträchtlich sein kann, zeigt

Versuch 6.

Die 270 g schwere Leber eines kleinen verdauenden Hundes wurde 2 Stunden mit 1000 ccm Kalbsblut durchströmt.

100 ccm Kontrollblut enthielten	25,5 mg Harnstoff
100 ccm Durchströmungsblut enthielten . . .	41,8 mg „
Neugebildet pro 100 ccm Blut	16,3 mg Harnstoff

II. Versuche mit Zusatz von Aminosäuren zum Blut.

Es könnte zweckmäßig erscheinen, die gesamte Blutmenge erst einmal durch die Leber zu leiten, dann eine Kontrollprobe zu entnehmen und darauf die zu untersuchende Substanz zuzusetzen. Bei einem Abfluß von 100 ccm in der Minute würde sich aber der Versuch dadurch um ca. $^1/_4$ Stunde verzögern, und zwar zu einer Zeit, in der die Leber noch am vitalsten ist. Indes erwies sich diese Vorsichtsmaßregel als überflüssig. Bei Durchblutung einer Hundeleber wurde in einer Probe des einmal durch das Organ geschickten Blutes nach 15 Minuten Durchströmung ein Harnstoffgehalt von 0,0305 g pro 100 ccm gefunden, während das direkt verarbeitete Kontrollblut einen Harnstoffgehalt von 0,0323 g pro 100 ccm ergab. Eine nennenswerte Veränderung im Harnstoffgehalt des Blutes findet also beim bloßen Durchleiten durch eine Hungerleber in der ersten Viertelstunde nicht statt. Es wurde deshalb vorgezogen, das Kontrollblut zu verarbeiten, ohne es vorher durch die Leber geschickt zu haben; dadurch wird das Organ sofort nach der Entnahme für die Harnstoffbildung aus der zugeführten Substanz verfügbar, und die Versuche brauchen sich nicht auf zu lange Zeiträume zu erstrecken. Letzterer Umstand ist wichtig, um eine Bakterienwirkung, die das Resultat in positivem oder negativem Sinne beeinflussen könnte, möglichst auszuschließen. Wie in den Kontrollversuchen hatten die Tiere 2 bis 3 mal 24 Stunden vor der Durchblutung gehungert.

Versuch 7.

Mittelgroßer ausgewachsener Hund.
Leber 320 g.
1000 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 4 g Glykokoll (Merck) in 0,9%iger NaCl-Lösung.
Durchblutung gut. Druck 20 bis 30 mm Hg.
Ausfließendes Blut stark venös gefärbt.
Dauer 2 Stunden.

In 100 ccm Kontrollblut	22,3 21,4	Mittel: 21,9 mg Harnstoff
In 100 ccm Durchströmungsblut	66,0 64,6	Mittel: 65,3 mg "
Zunahme pro 100 ccm Blut		43,4 mg "
Zunahme total		434,0 mg Harnstoff

Versuch 8.

Mittelgroßer ausgewachsener Hund.
Leber 320 g.
1170 ccm Kalbsblut.
Zusatz 4 g Glykokoll (Merck) in 50 ccm 0,9 %iger NaCl-Lösung.
Durchblutung sehr gut. Druck 20 bis 30 mm Hg.
Dauer 2 Stunden.

In 100 ccm Kontrollblut	28,8 mg Harnstoff
In 100 ccm Durchströmungsblut	70,3 mg "
Zunahme pro 100 ccm Blut	41,5 mg Harnstoff
Zunahme total	484,6 mg "

Die Blutproben von Versuch 8 wurden nach Mörner-Sjöqvist verarbeitet. Nach letzterem Verfahren müßte sich etwa entstandene Hydantoinsäure in der Bariumfällung finden, nachdem der Harnstoff durch das Ätheralkoholgemisch extrahiert worden ist. Aus der Bariumfällung konnte jedoch keine Spur von Hydantoinsäure gewonnen werden.

Versuch 9.

Kleiner ausgewachsener Hund.
Leber 126 g. 920 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 4 g Glykokoll in 50 cm Ringerlösung.
Durchströmung mäßig. Druck anfangs 30 mm Hg, später 60 mm Hg.
Das stark desoxydierte Blut tropft rasch aus der Vena cava ab.
Dauer 2 Stunden.

In 100 ccm Kontrollblut	29,6	
	29,6	Mittel: 29,8 mg Harnstoff.
	30,2	
In 100 ccm Durchströmungsblut	40,4	
	40,4	Mittel: 40,6 mg
	41,1	
Zunahme pro 100 ccm Blut . .		10,8 mg
" total		99,4 mg

Versuch 10.

Großer ausgewachsener Hund.
Leber 615 g. 2100 ccm Rinderblut.
Zusatz von 4g Glykokoll. Durchströmung gut.
Dauer 1½ Stunden.

In 100 ccm Kontrollblut	31,9	32,1 mg Harnstoff.
	32,3	
In 100 ccm Durchströmungsblut	59,4	59,8 mg "
	60,3	
Zunahme pro 100 ccm Blut . .		27,7
" total		581,0 mg

Ein Teil des mit Alkohol enteiweißten Blutes wurde nach von Schröder verarbeitet, um den Harnstoff darzustellen. Es gelang jedoch nicht, den gelblichen Sirup, der schließlich erhalten wurde, zur Krystallisation zu bringen. Der Sirup gab mit HNO_2 Gasentwicklung; auch ließ sich beim Behandeln desselben mit konz. Salpetersäure die Bildung von Krystallblättchen unter dem Mikroskop erkennen.

Der Versuch mußte vorzeitig unterbrochen werden infolge einer Luftembolie. Der größte Teil der Leber zeigte eine gleichmäßige weiße Sprenkelung, nur ein kleiner Lappen war vollständig freigeblieben; dieser zeigte beim Ausscheiden nur geringe Blutung, während das übrige Organ stark bluthaltig war. Der kleine Lappen war offenbar von der Zirkulation abgeschnitten. Partien mit mangelhafter Durchströmung lassen sich gelegentlich schon während des Versuches erkennen, sie können sich jedoch vollständig der Beobachtung entziehen und werden nur zufällig z. B. durch die Luftembolie erkannt. Es ergibt sich daraus, daß Durchströmungsversuche nur mit großer Vorsicht quantitativ miteinander vergleichbar sind, indem z. B. eine große Leber mit Ausfall einzelner Gefäßbezirke nicht leistungsfähiger ist, als eine kleine gleichmäßig durchblutete Leber.

Versuch 11.

Mittelgroßer ausgewachsener Hund.

Leber 227 g.

Durchströmung mit Hundeblut (1800 ccm Blut und 500 ccm Lockesche Lösung) 1000 ccm für die Durchströmung, 200 ccm für die Kontrollbestimmung.

Zusatz von 5 g d,l-Alanin in Ringerscher Lösung.

Durchblutung mäßig gut. Druck anfangs 40 mm Hg. Am Schluß 100 mm Hg.

Dauer 2 Stunden.

In 100 ccm Kontrollblut	27,9 25,5	26,7 mg Harnstoff.
In 100 ccm Durchströmungsblut	40,3	40,3 mg "
Zunahme pro 100 ccm		13,6
Total		136,0 mg

Versuch 12.

Mittelgroßer ausgewachsener Hund.

Leber 365 g.

Durchströmung mit 1250 ccm Kalbsblut.

Zusatz von 2,8 g d-l-Alanin.

Durchblutung gut.

Druck 20 bis 30 mm Hg.

Dauer 3 Stunden.

In 100 ccm Kontrollblut	27,0 mg Harnstoff
In 100 ccm Durchströmungsblut .	47,7 mg "
Zunahme pro 100 ccm	20,7 mg Harnstoff
Gesamtzunahme	259,0 mg "

Auch in diesem Versuch wurde bei der Verarbeitung des Blutes zur Isolierung des Harnstoffs nach von Schröder ein Sirup erhalten, in dem auf Zusatz konz. Salpetersäure die Bildung blätteriger Krystalle unter dem Mikroskop beobachtet werden konnte.

Versuch 13.

Kleiner ausgewachsener Hund.
Leber 130 g.
Durchströmung mit 1150 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 2,7 g d-l-Alanin.
Durchblutung sehr gut.
Dauer 2 Stunden.

In 100 ccm Kontrollblut	22,7	
	25,3	24,0 mg Harnstoff
In 100 ccm Durchströmungsblut	46,4	46,5 mg „
	46,7	
Zunahme pro 100 ccm		22,5 mg Harnstoff
Gesamtzunahme		259,0 mg „

Die kleine Leber hatte in 2 Stunden aus Alanin gleich viel Harnstoff gebildet wie in Versuch 12 die größere in 3 Stunden.

Versuch 14.

Junger kleinrassiger Hund.
Leber 174 g.
1100 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 4,5 g mit NaOH neutralisierter l-Asparaginsäure.
Durchblutung mäßig gut.
Druck anfangs 40 mm Hg, später 100 mm.
Dauer 2 Stunden.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut	18,3	
	18,6	18,5 mg Harnstoff
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut	33,6	
	33,6	33,6 mg „
Zunahme pro 100 ccm		15,1 mg Harnstoff
Gesamtzunahme		165,0 mg „

Versuch 15.

Junger kleinrassiger Hund.
Leber 190 g.
1100 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 5 g mit NaOH neutralisierter d-Glutaminsäure.
Durchblutung mäßig gut.
Druck 40 bis 100 mm Hg.
Dauer 2 Stunden.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut (gleiches Blut wie in Versuch 14)		18,5 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut	36,0	
	37,5	36,7 mg
Zunahme pro 100 ccm Blut		18,2 mg
Gesamtzunahme		200,0 mg.

Versuch 16.

Ausgewachsener mittelgroßer Hund.
Hochgradige Adipositas universalis.
Fettleber 250 g.
Durchströmung mit 1000 ccm Hundeblut.
Zusatz von 2,4 g d-l-Serin. Die Aminosäure war nach Vorschrift von Leuchs und Geiger[1]) synthetisch dargestellt worden.
Durchblutung ziemlich gut.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut	38,6	
	38,2	38,4 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut		42,3 mg
Zunahme pro 100 ccm		3,9 mg
Gesamtzunahme		39,0 mg.

Die geringe Zunahme an Harnstoff liegt innerhalb der Fehlergrenzen. Der negative Ausfall des Versuchs ist wohl auf die pathologische Beschaffenheit der Leber (hochgradige Verfettung, höckerige Oberfläche, derbe Konsistenz, ähnlich wie bei Cirrhose) zurückzuführen.

Ein weiterer Versuch mit Serin ergab ein positives Resultat:

Versuch 17.

Mittelgroßer ausgewachsener Hund.
Leber 238 g.
Durchströmung mit 1100 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 2,2 g d-l-Serin.
Durchblutung ziemlich gut.
Dauer 2 Stunden.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut	24,0	
	27,0	25,5 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut	45,5	45,5 mg
Zunahme pro 100 ccm		20,0 mg
Gesamtzunahme		220,0 mg.

Versuch 18.

Großer ausgewachsener Hund.
Leber 417 g.
Durchströmung mit 1500 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 2 g l-Leucin.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 2645.

Durchblutung sehr gut.
Dauer 2 Stunden.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut	43,2	
	43,8	43,5 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut	53,7	
	54,0	53,8 mg
Zunahme pro 100 ccm		10,3 mg
Gesamtzunahme		154,5 mg.

Versuch 19.

Mittelgroßer ausgewachsener Hund.
Leber 245 g. 1000 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 1 g l-Leucin.
Durchblutung sehr gut.
Abfluß aus der Vena cava 150 bis 200 ccm pro Minute.
Druck 30 mm Hg.
Dauer 2 Stunden.

Harnstoff pro 100 ccm Kontrollblut . . .	32,0	
	32,6	32,3 mg
Harnstoff pro 100 ccm Durchströmungsblut	55,8	
	56,3	56,0 mg
Zunahme pro 100 ccm		23,7 mg
Gesamtzunahme		237,0 mg.

Im Versuch 19 ist etwas mehr Harnstoff gebildet worden als dem zugesetzten Leucin entspricht (227 mg), doch liegt die Differenz innerhalb des Bereichs der Versuchsfehler. Auffallend ist, daß die große Leber im Versuch 18 aus 2 g Leucin weniger Harnstoff gebildet hat als die kleine im Versuch 19 aus 1 g, während beide Durchströmungen als gut gelungen zu bezeichnen sind.

Versuch 20.

Großer ausgewachsener Hund.
Leber 490 g.
Durchströmung mit 1400 ccm Kalbsblut.
Zusatz von 1 g Cystin. Das Cystin wurde nach der Vorschrift von E. Fischer aus Haaren gewonnen.
Durchblutung sehr gut.
Druck 20 bis 30 mm Hg.
Abfluß 100 ccm in der Minute.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut		43,2 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut	54,8	
	55,6	55,2 mg
Zunahme pro 100 ccm		12,0 mg
Gesamtzunahme		168,0 mg

Versuch 21.

Kleiner ausgewachsener Hund.

Leber 167 g.

Durchströmung mit 1020 ccm Kalbsblut.

Zusatz von 2,5 g l-Tyrosin zum Blut. (Das Tyrosin wurde in $^{n}/_{5}$-HCl gelöst, allmählich mit $^{n}/_{5}$-Na_2CO_3 neutralisiert, die nahezu neutrale Lösung, aus der noch keine Abscheidung von Tyrosin erfolgt war, wurde rasch zur gesamten Blutmenge zugegeben und die zur völligen Neutralisation nötige Menge Na_2CO_3-Lösung nachgegossen.)

Durchblutung ziemlich gut.

Abfluß 60 ccm in der Minute.

Druck 30 bis 40 mm Hg.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut		35,8 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut	38,1	
	40,3	39,2 mg
Harnstoff-Zunahme pro 100 ccm Blut . .		3,4 mg

Die Zunahme liegt noch innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler.

Zwei weitere Versuche mit Tyrosin (Vers. 22 und 23) hatten ebenfalls ein negatives Resultat. In einem Falle wurde aus der Durchströmungsflüssigkeit der größte Teil des zugesetzten Tyrosins wieder gewonnen.

Versuch 24.

Kleiner junger Hund.

Leber 165 g.

Durchströmung mit 915 ccm Rinderblut.

Zusatz von 3,2 g.

Taurin. (Darstellung nach Tauber[1]) aus Galle.)

Durchblutung ziemlich gut.

Gute Desoxydierung, rasches Abtropfen aus der Vena cava.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut	29,6	
	30,2	29,9 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut . .	36,0	
	36,7	36,3 mg
Zunahme pro 100 ccm		6,4 mg
Gesamtzunahme		58,2 mg

Versuch 25.

Kleiner ausgewachsener Hund.

Leber 135 g.

1000 ccm Hundeblut. Zusatz von 4 g Taurin.

Durchblutung ziemlich gut.

Harnstoff in 100 ccm Kontrollblut	38,4 mg
Harnstoff in 100 ccm Durchströmungsblut	42,6 mg
Zunahme pro 100 ccm	4,2 mg

[1]) Tauber, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 323.

Auch in diesem Falle ist trotz der Verwendung von Hundeblut das Resultat als negativ anzusehen. Der Übergang von Taurin in Harnstoff bei der Durchströmung der Leber kann daher nicht als erwiesen angesehen werden.

III. Versuche über Desaminierung der Aminosäuren durch Leberbrei.

Es läßt sich also der Übergang einer ganzen Reihe von Aminosäuren in Harnstoff bei der künstlichen Durchströmung der überlebenden Hundeleber nachweisen. Es muß sich dabei um eine diesen Körpern gemeinsame Reaktion handeln. Um festzustellen, ob die Leber über Fermente verfügt, die den Aminostickstoff als NH_3 abzuspalten imstande sind, ähnlich wie dies von S. Lang[1]) angegeben worden ist, wurden Versuche mit sterilem Leberbrei unter Zusatz von Aminosäuren ausgeführt.

Die Leberstückchen wurden steril entnommen in zahlreiche möglichst kleine Stückchen zerkleinert und in Mengen von 15 bis 30 g in große Reagensgläser mit Lösungen von Glykokoll und Alanin in physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Kontrolllösungen mit Aminosäuren oder mit physiologischer Kochsalzlösung allein wurden jeweils gleich nach dem Zusatz der Leberstückchen einige Minuten im siedenden Wasserbad gehalten. Vom Zusatz eines Antisepticums wurde abgesehen (Freudenberg[2]).

Alle Proben blieben unter häufigem Umschütteln 2 bis 8 Stunden im Brutschrank bei 39°. Darauf wurde der Inhalt der Röhrchen in die 10- bis 12fache Menge kochenden, mit Schwefelsäure leicht angesäuerten, mit etwas Zinksulfat versetzten Wassers gegossen, mit Natriumcarbonat bis zu nur noch schwach saurer Reaktion versetzt, heiß filtriert und mit heißem, leicht angesäuertem Wasser 5 bis 6mal nachgewaschen; aus den hellgelben, leicht opalescierenden Filtraten wurde mit Magnesia das Ammoniak abdestilliert. Die erhaltenen NH_3-Werte sind auf 100 g Leber ausgerechnet.

Versuch 1.

Dauer 8 Stunden.

Leber + 0,5 g Glykokoll in physiolog. NaCl-Lösung sterilisiert (Kontrolle)	35,5 mg
Leber + 0,5 g Glykokoll in physiolog. NaCl-Lösung	37,2 mg
Leber + 0,5 g „ „ „ „ „	38,6 mg

[1]) S. Lang, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 321.
[2]) Freudenberg, diese Zeitschr. 45, 467.

Versuch 2.

Dauer $2^1/_2$ Stunden.

Leber + physiolog. NaCl-Lösung sterilisiert (Kontrolle)	7,2 mg
Leber + 0,5 g Glykokoll in physiolog. NaCl-Lösung	6,2 mg

Versuch 3.

Dauer 3 Stunden.

Leber + physiolog. NaCl-Lösung sterilisiert (Kontrolle)	14,0 mg
Leber + 0,5 g Asparaginsäure	15,3 mg
Leber + 0,5 g Alanin	16,7 mg

Unter den gegebenen Bedingungen findet also aus Glykokoll, Alanin und Asparaginsäure durch Leberbrei keine NH_3-Abspaltung statt. Dasselbe negative Resultat hatten Versuche, in denen durch die Flüssigkeit mit dem Leberbrei und den Aminosäuren 3 Stunden Sauerstoff durchgeleitet wurde.

Eine einfache Desaminierung findet nach den Versuchen in vitro nicht statt. Es kommt anscheinend im Organismus nur bei reichlicher Gegenwart von verwertbarem Sauerstoff die oxydative Desaminierung in Frage.

In diesem Sinne dürften jene Versuche Langs aufzufassen sein, in denen aus Glykokoll beim $1^1/_2$ bis $2^1/_2$ stündigen Schütteln von zerkleinerter frischer Hundeleber mit defibriniertem Hundeblut im Brutraum eine erhebliche Ammoniakabspaltung erfolgte (z. B. in Versuch 21 je 45 und 28 mg NH_3 pro Stunde und 100 g Leber, was annähernd der von mir beobachteten Harnstoffbildung in Versuch 7, 8 und 10 entspricht).

Später haben Neubauer und Fischer[1]) festgestellt, daß die Phenylaminoessigsäure sowohl im lebenden Organismus wie in der künstlich durchbluteten Hundeleber desaminiert wird und in Phenylglyoxylsäure übergeht. Ein Teil der letzteren wird im lebenden Organismus sekundär zur entsprechenden Oxysäure, der Mandelsäure, reduziert.

Ein gleiches Verhalten konnten Knoop und Kertess[2]) bei der γ-Phenyl-α-Aminobuttersäure in Verfütterungsversuchen feststellen. Für die Desamierung der α-Aminosäuren in der Leber wird eine analoge Reaktion anzunehmen sein. Es wird eine weitere Aufgabe bilden, die desaminierten Reste der Aminosäuren aufzusuchen.

[1]) Neubauer und Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 230.

[2]) Knoop und Kertess, Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 252.

IV.

Die vorliegenden Versuche weisen darauf hin, daß die Harnstoffbildung aus Aminosäuren mit Wahrscheinlichkeit über NH_3-Abspaltung erfolgt. Dafür spricht, daß alle untersuchten (schwefelfreien) aliphatischen Aminosäuren Harnstoffwerte ergaben, die ihrer Größenordnung nach nicht wesentlich verschieden sind. Zwar erscheint das Glykokoll besonders zur Harnstoffbildung geeignet, aber eine spezifische, die anderen Aminosäuren weit übertreffende Fähigkeit, Harnstoff zu bilden, scheint ihm nicht zuzukommen.

Mit der Reserve, mit der Durchblutungsversuche quantitativ miteinander verglichen werden dürfen (vgl. Versuch 10), läßt sich immerhin ein ähnliches Verhalten der Aminosäuren erkennen, wie es Stolte[1]) auf Grund seiner Injektionsversuche angegeben hat. Es sind jedoch bei meinen Durchströmungen weder gleiche Gewichtsmengen, noch äquimolekulare Mengen von Aminosäuren verwendet worden. Bei Versuchen dieser Art spielen andere Faktoren eine viel bedeutendere Rolle als die absolute Menge der zugeführten Substanz, wie z. B. aus einem Vergleich der Versuche 12 und 13 und 18 und 19 hervorgeht. Auf die Angabe der umgewandelten Aminosäurenmenge in Prozent der zugesetzten wurde deshalb verzichtet.

Tyrosin als Vertreter der aromatischen Aminosäuren hat unter den gegebenen Bedingungen keine merkliche Menge Harnstoff geliefert, ebenso verhielt sich Taurin und, so weit ein einzelner Versuch einen Schluß gestattet, auch das Cystin.

Umstehend eine Übersicht der Versuche unter Berechnung der von 100 g Leber in der Stunde gebildeten Harnstoffmenge[2]).

Meine Versuche bestätigen und vervollständigen die bereits vorliegenden Erfahrungen über die Harnstoffbildung in der Leber. Das Ergebnis läßt sich in Kürze folgendermaßen zusammenfassen:

1. Bei Durchblutung der Leber von Hunden und Kaninchen ohne Zusatz zum Blut nach einer Hungerperiode von 3×24 Stunden findet keine nennenswerte Harnstoffbildung statt.

---

[1]) Stolte l. c.

[2]) Versuch 16, wo die Leber ausgesprochen krankhaft verändert war, ist nicht aufgenommen.

Versuchs-Nr.		Verwendete Blutart	Zusatz	Harnstoffbildung in der Stunde mg
3	Kaninchen, Hungerleber	Kalbsblut	Kein	15
1	„ „	„	Ammonlactat	72
4	Hund, Hungerleber	„	Kein	6
5	„ „	„	„	4
6	„ Verdauungsleber	„	„	30
1	„ Hungerleber	„	Ammoncarbonat	215
7	„ „	„	Glykokoll	68
8	„ „	„	„	76
9	„ „	„	„	40
10	„ „	Rindsblut	„	63
11	„ „	Hundeblut	d.-l.-Alanin	30
12	„ „	Kalbsblut	„	24
13	„ „	„	„	99
17	„ „	„	d.-l.-Serin	46
14	„ „	„	l-Asparaginsäure	47
15	„ „	„	d-Glutaminsäure	53
18	„ „	„	l-Leucin	19
19	„ „	„	„	48
20	„ „	„	Cystin	17
24	„ „	Rindsblut	Taurin	17
25	„ „	Hundeblut	„	16
21	„ „	Kalbsblut	l-Tyrosin	10

2. Bei Durchströmung einer während der Verdauung entnommenen Leber mit Blut ohne Zusatz bildet sich eine beträchtliche Menge Harnstoff.

3. Zusatz von Ammoniumsalzen zur Durchströmungsflüssigkeit führt bei Hunden und Kaninchen zu erheblicher Anreicherung des Blutes an Harnstoff.

4. Zusatz von Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparaginsäure und Serin zum Durchströmungsblut führt gleichfalls zur Anreicherung desselben an Harnstoff.

5. Tyrosin, Cystin und Taurin ergaben unter den gleichen Bedingungen keine deutliche Harnstoffbildung.

Zur Frage der Glykokollbildung im Tierkörper.

Von

Georg Haas (Gießen).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Straßburg.)

(Eingegangen am 19. April 1916.)

Seitdem Wiechowski[1]) und Magnus-Levy[2]) unabhängig voneinander den Nachweis geführt haben, daß Glykokoll im Tierkörper in größeren Mengen entstehen kann, als in dem zersetzten Eiweiß präformiert enthalten ist, hat es nicht an Versuchen gefehlt, die sich mit der Frage nach der Quelle des Glykokolls beschäftigten. Wie bekannt, stellten Wiechowski und Magnus-Levy in ihren Fütterungsversuchen mit Benzoesäure an Kaninchen fest, daß bis zu 21% (Wiechowski) resp. 28% (Magnus-Levy) des in 24 Stunden ausgeschiedenen Harnstickstoffs in dem Glykokoll der gebildeten Hippursäure vorhanden war, während, wie Magnus-Levy berechnet, auf 100% Eiweißstickstoff nur 4,7% N von präformiertem Glykokoll treffen können.

Diese Feststellung der Neubildung von Glykokoll gilt nicht nur für den Stoffwechsel, der unter dem Einfluß von Benzoesäure steht, sondern auch für den normalen Stoffwechsel, wie Magnus-Levy am wachsenden Tier demonstrieren konnte.

Was nun die Frage nach der Herkunft des Glykokolls anlangt, so erwog Magnus-Levy den Gedanken, ob nicht der Vorgang der Glykokollbildung resp. Hippursäurebildung derartig

---

[1]) Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7.

[2]) Magnus-Levy, diese Zeitschr. 6, 523, 1907.

zustande käme, daß nach hydrolytischer Spaltung des Eiweißes die Benzoesäure sich mit den einzelnen Aminosäuren zu den entsprechenden Benzoylverbindungen verknüpfe und diese Verbindungen dann weiter einen Abbau bis zur Hippursäure erführen. In diesem Sinne prüfte er die Benzoylverbindungen der verschiedensten Aminocarbonsäuren, Aminodicarbonsäuren, Diaminosäuren und Aminooxysäuren, jedoch mit negativem Erfolge. Keine der benzoylierten Aminosäuren ging in Hippursäure über, sie wurden alle unverändert wieder ausgeschieden, mit Ausnahme einer einzigen, einer unbekannten Aminosäure, die aus der Leucinfraktion einer pankreatischen Verdauung stammte und die zum Teil quantitativ, zum Teil zu 70 bis 80% in Hippursäure umgewandelt wurde. Dieser merkwürdige Befund und die Zusammensetzung dieser unbekannten Aminosäure haben leider bis zum heutigen Tage keine weitere Aufklärung gefunden und sind deshalb auch für die Lösung der Frage nach der Glykokollbildung ohne Erfolg geblieben.

Eine weitere Möglichkeit, wie die Glykokollbildung zustande kommen könnte, wäre die synthetische Bildung. Eine solche und zwar aus Essigsäure und Ammoniak ist zuerst von R. Cohn[1]) diskutiert worden, dann eine andere von Friedmann und Tachau[2]), fußend auf der Vorstellung der α-Aminosäurenbildung nach Art der Erlenmeyer- und Kunlinschen Reaktion, bei der Bildung von α-Aminosäuren aus α-Ketonsäuren und Ammoniak erfolgt und deren Gültigkeit für den Tierkörper gerade in den letzten Jahren[3]) in einer Reihe von Versuchen demonstriert wurde. Friedmann und Tachau, welche die Beobachtung machten, daß beim Kaninchen die Leber für die Hippursäurebildung verantwortlich zu machen ist, versuchten die Frage nach den Vorstufen des Glykokolls durch den Durchblutungsversuch der überlebenden Leber und durch die Bestimmung der Größe der Hippursäuresynthese zu entscheiden, wobei sie unter Zusatz von Benzoesäure die Na-

---

[1]) Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. 17, 310, 1892; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. 53.

[2]) Friedmann und Tachau, diese Zeitschr. 35, 88, 1911.

[3]) Knoop, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67. — Knoop und Kertess, Zeitschr. f. physiol. Chem. 71. — Embden und Schmitz, diese Zeitschr. 29. — Kondo, diese Zeitschr. 38. — Fellner, diese Zeitschr. 38.

trium- und Ammoniumsalze der verschiedensten Fettsäuren als Durchblutungsmaterial verwandten.

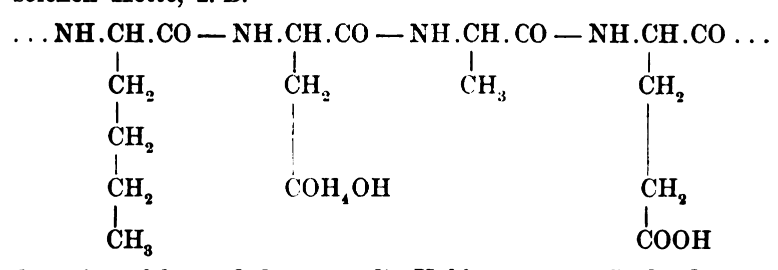
So kamen zur Durchblutung essigsaures Ammonium und essigsaures Natrium, glykolsaures Ammonium und Natrium, glyoxylsaures, propionsaures, milchsaures, buttersaures, β-oxybuttersaures, valeriansaures, capronsaures Natrium, ferner Glykokoll, Alanin, Aminobuttersäure, Leucin. Während bei Zusatz von Benzoesäure allein eine gewisse Menge Hippursäure in der Leber gebildet wurde, trat eine weitere Erhöhung der Hippursäurebildung weder bei Zusatz von Glykokoll noch einer der anderen erwähnten Substanzen ein. Friedmann und Tachau erklären diese Tatsache mit der Annahme, „daß die Fähigkeit der Leber, Hippursäure zu bilden, quantitativ beschränkt ist, und daß der Leber in diesen Fällen so viel Glykokoll oder in Glykokoll übergehende Substanz zur Verfügung steht, daß die Synthese in der Versuchszeit stets in vollem Umfang erfolgt".

So lehrreich diese Versuche auch sind und so beachtenswert für die Verwertung der Resultate von Durchblutungen isolierter überlebender Organe, so bringen sie bezüglich der Frage der synthetischen Glykokollbildung keine definitive Entscheidung weder in positivem noch in negativem Sinne. Die Vermutung, daß die Glyoxylsäure unter Stickstoffaufnahme in Glykokoll übergehen und somit als Vorstufe des Glykokolls angesprochen werden könnte, liegt nach den Erfahrungen über die Bildung von Aminosäuren aus Ketonsäuren besonders nahe. Auch ich[1]) richtete auf diesen Punkt, als ich das Schicksal der Glyoxylsäure im Tierkörper studierte, mein besonderes Augenmerk. Weder in Versuchen mit Organbrei noch in Durchblutungsversuchen an der überlebenden Leber konnte unter Zusatz von glyoxylsaurem Ammonium eine Neubildung von Glykokoll, das als Naphthalinsulfoprodukt zur Darstellung gelangen sollte, konstatiert werden; auch sprechen gegen eine solche die Analyse des nicht durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffanteils.

Sind somit die Versuche, die die synthetische Bildung von Glykokoll beweisen sollten, bisher ohne Erfolg geblieben, so

[1]) Gg. Haas, diese Zeitschr. 46.

war ferner der Gedanke zu prüfen, ob nicht vielleicht in der Art und Weise des Abbaus des Eiweißmoleküls die Bedingungen gegeben seien, größere Mengen Glykokoll zu liefern als in ihm vorgebildet sind. Nach dem Gedankengang Hofmeisters und den glänzenden Untersuchungen Emil Fischers stellt sich das Eiweißmolekül als eine amidartige Verkettung verschiedener Amidosäuren dar. Bei der Verbrennung könnte der Abbau einer solchen Kette, z. B.



derartig erfolgen, daß zuerst die Kohlenwasserstoffe der Seitenketten wegoxydiert werden, bis schließlich nur der letzte Kohlenstoff als Carboxylgruppe am Gerüste, das eine Glycylkette darstellt, erhalten bliebe:

```
...NH.CH.CO — NH.CH.CO — NH.CH.CO — NH.CH.CO...
      |             |             |             |
     COOH          COOH          COOH          COOH
```

Sollte dabei durch eine weitere hydrolytische Spaltung nicht Gelegenheit zur intermediären Bildung von Aminomalonsäure gegeben sein

```
( NH₂.CH — COOH )
       |
      COOH        ),
```

von der wir wissen, daß sie im Reagensglas sehr leicht unter CO_2-Abspaltung in Glykokoll übergeht? Ist vielleicht die Aminomalonsäure die von Magnus-Levy beobachtete unbekannte Aminosäure, die zum Teil quantitativ in Glykokoll umgewandelt wurde?

Ziel vorliegender Arbeit war es, die Aminomalonsäure auf ihre Fähigkeit, Glykokoll im Tierkörper zu bilden, einer Prüfung zu unterziehen.

Zur Aufklärung dieser Frage sollte zunächst der Durchblutungsversuch an der überlebenden Leber herangezogen werden. Der Durchblutungsversuch am isolierten Organ bietet den

Vorteil der leichteren Übersicht über die chemischen Umwandlungsvorgänge gegenüber den komplizierteren Stoffwechselprozessen des Gesamtorganismus, der das gesuchte Endprodukt, in unserem Falle Glykokoll, ganz oder zum größten Teil in ein weiteres Abbauprodukt verwandelt, Harnstoff, und dadurch die Deutung und die quantitativen Verhältnisse der chemischen Vorgänge mehr oder minder verschleiert. Bei der maßgebenden Rolle, welche die Leber bei dem Zustandekommen der intermediären Stoffwechselvorgänge spielt, ist es naheliegend, gerade dieses Organ zur Durchblutung heranzuziehen.

Experimentelles.

Die Aminomalonsäure wurde nach der Angabe von Ruhemann und Orton[1]) hergestellt. In die entsprechenden Mengen rauchender Salpetersäure wurde unter Kühlung Malonamid eingetragen, und zwar in kleinen Portionen, und unter Rühren das Reaktionsgemisch auf Eis ausgegossen. Das sich ausscheidende Nitroprodukt wurde gesammelt, mit Wasser sorgfältig von der anhaftenden Salpetersäure befreit und mit den entsprechenden Mengen Natriumamalgam ($2^1/_2$ %) behandelt. Die Isolierung geschah nach den Angaben A. v. Baeyers über das Bleisalz, das in essigsaurer Lösung durch Bleizucker zur Ausscheidung kommt.

Die Darstellung des Nitromalonamids ist mit einigen Schwierigkeiten verknüpft; ihr Gelingen und die Ausbeute ist außerordentlich von der Temperatur abhängig, bei der man die Nitrierung vor sich gehen läßt, eine Tatsache, auf die Ruhemann und Orton unserer Ansicht nach nicht genügend hingewiesen haben. Man verfährt am besten derartig, daß man die Mengen rauchender Salpetersäure, in die man das Malonamid einträgt, in einer gut zubereiteten Kältemischung auf — 15° abkühlt, und zwar in einem Gläschen mit relativ engem Hals, um die Oberfläche der darüber stehenden warmen Luft zu verkleinern. Das Eintragen des Malonamids geschieht unter Turbinieren und in kleinen Portionen; die beste Ausbeute hatte ich, wenn ich mit relativ geringen Substanzmengen arbeitete (5 g Malonamid, 28 ccm rauchende Salpetersäure), da die hierzu nötigen Gläschen auch genügend durchgekühlt werden konnten. Ist richtig gekühlt, so scheidet sich schon während des Turbinierens der Nitromalonamid ab; sowie sich die ersten rotbraunen Dämpfe von NO_2 entwickeln, kann das Reaktionsgemisch nicht rasch genug auf Eis gegossen werden, andernfalls zersetzt es sich unter kräftiger NO- und Wärmeentwicklung.

---

[1]) Ruhemann und Orton, Journ. of chem. Society 1909.

Die krystallisierte reine Säure verwittert beim Liegen an der Luft und zeigt je nach dem Krystallwassergehalt einen differenten Zersetzungspunkt (um 140°) unter CO_2-Abspaltung. Bei der Analyse der im Vakuum getrockneten Substanz erfordern 0,2390 g 20,0 ccm $^n/_{10}$-Säure. Berechnet: 11,76% N. Gefunden: 11,75% N.

Die Durchblutungsversuche wurden mit dem Mandelschen Apparat ausgeführt, und zwar sowohl an der Kaninchenleber (in 3 Versuchen), wobei Kalbs- und Rinderblut verwendet wurden, als auch an der Hundeleber unter Verwendung von Hundeblut, das zur Hälfte mit Lockescher Lösung verdünnt war. Durch die letzteren Versuche sollte die eventuell schädliche Einwirkung des artfremden Blutes vermieden werden. Die Durchblutungen dauerten $1^1/_2$ bis 2 Stunden; sie verliefen sämtlich sehr glatt bei einem Druck von 40 bis 50 mm Hg.

Die Aminomalonsäure wurde in wechselnden Mengen von 3 bis 4 g als Natriumsalz langsam innerhalb der ersten Viertelstunde des Versuches dem Blute zugegeben.

Nach Beendigung des Versuches wurde der Apparat mit 500 ccm bis 1 l H_2O nachgewaschen und Waschwasser und Durchblutungsflüssigkeit auf Glykokoll verarbeitet, das als Naphthalinsulfoprodukt zur Darstellung gelangen sollte. Stets wurden Kontrollversuche mit den gleichen Mengen desselben Blutes ausgeführt, um ein Bild zu erhalten von den im Blute präformierten Substanzen, die eventuell mit Naphthalinsulfochlorid zur Reaktion gelangten.

Vor allem war bei der Bearbeitung des Blutes darauf zu achten, daß nicht etwa aus der unveränderten Aminomalonsäure durch CO_2-Absprengung künstlich Glykokoll gebildet wurde; auch belehrte mich ein Versuch, daß Aminomalonsäure sehr wohl mit Naphthalinsulfochlorid reagiert und daß das gebildete Naphthalinsulfoprodukt in salzsaurer Lösung nach mehrtägigem Stehen unter CO_2-Abgabe Naphthalinsulfoglykokoll zur Abscheidung bringt.

Ich verfuhr deshalb zwecks Entfernung der Aminomalonsäure bei meinen Versuchen anfangs derartig, daß ich das Blut mit dem dreifachen Volumen Alkohol fällte und das Koagulum mit schwach salzsaurem Wasser wusch und auspreßte. Das filtrierte Waschwasser wurde mit dem Filtrat vereinigt und bei

einer Temperatur von 30° nach sorgfältiger Neutralisation auf ungefähr 300 ccm im Faustschen Abdampfkasten eingeengt. Sodann wurde quantitativ in einen Kolben übergespült, mit Essigsäure angesäuert und, um ja alle Aminomalonsäure zu entfernen, mit Quecksilberacetat gefällt. Der Niederschlag wurde gut ausgewaschen, das Filtrat nach Entfernung des Quecksilbers mit Schwefelwasserstoff, mit Phosphorwolframsäure behandelt, der Phosphorwolframsäureniederschlag mit salzsaurem Wasser ausgewaschen und das Filtrat der Behandlung mit Naphthalinsulfochlorid unterworfen. In späteren Versuchen fällte ich das Blut anstatt mit Alkohol nach Schenck, nachdem ich mich überzeugt hatte, daß bei raschem Arbeiten keine CO_2-Absprengung zu befürchten ist. Ein Kontrollversuch, in dem zu 1 l Blut 0,5 g Glykokoll zugesetzt wurden, überzeugte mich, daß bei diesem Vorgehen Naphthalinsulfoglykokoll in sehr guter Ausbeute zur Abscheidung kommt.

In keinem der durchgeführten Versuche wurde ein Anhaltspunkt für Glykokollbildung aus Aminomalonsäure gefunden. Die Reaktionsprodukte mit β-Naphthalinsulfochlorid waren auf seiten des Blutes, dem Aminomalonsäure zugegeben wurde, nicht vermehrt gegenüber denen des Kontrollblutes.

Zu demselben Resultate führten mich Versuche, in denen ich gemessene Mengen Leberbrei auf Aminomalonsäure einwirken ließ und die Reaktionsprodukte mit β-Naphthalinsulfochlorid verglich mit denen der gleichen Mengen Leberbrei, bei denen kein Zusatz gemacht worden war. Der fein zerhackte Leberbrei wurde mit dem doppelten Gewicht Wasser, das Reaktionsgemisch mit Natriumcarbonat versetzt, so daß rotes Lackmuspapier sich violett färbte. Von Stunde zu Stunde wurden dem Gemisch, das auf 37° gehalten wurde, die entsprechenden Mengen Natriumbicarbonat zugegeben. Während der achtstündigen Versuchsdauer befand sich das Gemisch auf einem kleinen Schüttelapparat. Die Aufarbeitung geschah, nachdem nach Schenck gefällt war, analog den obigen Versuchen.

Nachdem es somit nicht geglückt war, an der isolierten Leber, weder im Durchblutungsversuch noch mit Organbrei, die Umwandlung von Aminomalonsäure in Glykokoll nachzu-

weisen, lag es nahe, noch einen entsprechenden Versuch am Organismus selbst auszuführen; der Gedanke, daß die Abspaltung von CO_2 vielleicht n einem anderen Organ als in der Leber erfolgt, dürfte ohne weiteres nicht von der Hand zu weisen sein.

Es wurde deshalb Aminomalonsäure (1,5 g) als Natriumsalz einem Kaninchen einverleibt und zwar auf dem Wege der Blutbahn, um eine eventuell schon im Darm oder unter der Haut vor sich gehende CO_2-Absprengung zu vermeiden und das eventuell im Harn ausgeschiedene Glykokoll sicher als das Produkt des intermediären Stoffwechsels ansprechen zu können.

Überraschenderweise erwies sich die Aminomalonsäure als toxisch; die in den einzelnen Versuchen zwischen 1 und 1,5 g wechselnden Dosen bedingten regelmäßig den Exitus, dessen zeitliches Einsetzen natürlich von der Injektionsdauer abhing.

Wurde 1 gr Aminomalonsäure als Natriumsalz in 50 ccm 0,5%iger Kochsalzlösung innerhalb 20 Minuten beigebracht, so trat der Tod zwischen der ersten und zweiten Stunde ein. Aber selbst bei einer Injektionsdauer von 6 Stunden trat bei einer Dosis von 1,5 g und 150 Kochsalzlösung der Exitus in der zehnten Stunde ein. Der hierbei erhaltene Harn ließ 0,8 gr unveränderte Aminomalonsäure, die als Bleisalz bei essigsaurer Reaktion des Harns isoliert wurde, zur Darstellung kommen, doch gelang es hier nicht, ebensowenig wie in zwei weiteren Versuchen, Glykokoll als Naphthalinsulfoprodukt zur Darstellung zu bringen.

Erwähnt sei noch die toxikologische Wirkung: 1,5 g Aminomalonsäure werden als Natriumsalz in wässeriger Lösung in einem Volumen von 100 ccm innerhalb 2 Stunden verabreicht. Der Blutdruck, an der Carotis gemessen, wird auf dem Kymographion aufgezeichnet. Beginn des Versuchs 3 Uhr; 5¹/₄ Uhr deutliche Zunahme der Atemfrequenz, leichte Senkung des Blutdrucks, Verringerung der Amplitude zwischen systolischem und diastolischem Blutdruck. Unter steter Zunahme dieser Erscheinung tritt um 6 Uhr 10 Minuten der Exitus ein. Es dürfte sich also bei der Aminomalonsäure um eine toxische Einwirkung auf das Atem- und Gefäßzentrum handeln.

Die Versuche der intravenösen Zufuhr von Aminomalonsäure beim Kaninchen geben uns somit ebenfalls keinen Anhaltspunkt für eine Glykokollbildung aus dieser Substanz. Sie zeigen uns neben der Toxicität der Aminomalonsäure, daß dieselbe zum mindesten nicht gerade sehr leicht verbrennlich ist, und daß die Absprengung der CO_2-Gruppe im intermediären Stoffwechsel sicherlich nicht derartig leicht und in dem Umfang vor sich geht, daß wir die Aminomalonsäure als die vor allem in

Betracht kommende Vorstufe des Glykokolls anzusehen hätten, z. B. bei der Hippursäurebildung des Kaninchens unter Einfluß der Benzoesäurewirkung. Um dem Einwand zu begegnen, es möchten sich doch geringe Mengen Glykokoll gebildet haben, dieselben hätten sich jedoch dem Nachweis entzogen dadurch, daß sie sofort im intermediären Stoffwechsel zu Harnstoff umgewandelt wurden, — wir wissen ja z. B. aus den Untersuchungen Stoltes[1]), daß von den Aminosäuren Glykokoll am leichtesten in Harnstoff übergeht —, haben wir das Benzoylprodukt der Aminomalonsäure hergestellt; dieses müßte dann im Falle der CO_2-Absprengung Hippursäure liefern, die ja ohne weiteres einer quantitativen Bestimmung zugänglich ist.

Zur Prüfung der Frage der Hippursäurebildung aus Benzoylaminomalonsäure wurde sowohl die Durchblutung an der überlebenden Hundeleber mit Hundeblut, als auch die subcutane Injektion von Benzoylaminomalonsäure beim Kaninchen und die Bestimmung der Hippursäure im Harn herangezogen.

Weder bei den Durchblutungsversuchen noch bei subcutaner Applikation gelang es, den Nachweis einer Hippursäurebildung zu erbringen.

Somit findet die Vermutung, daß die Aminomalonsäure eine Durchgangsstufe bei der Bildung des Glykokolls darstellt, auch in den Versuchen mit dem Benzoylprodukt keine Stütze.

Die Darstellung der Benzoylaminomalonsäure gelang am besten, indem das Kaliumsalz der Aminosäure in wäßriger Lösung bei Gegenwart von viel Kaliumbicarbonat mit einem großen Überschuß von Benzoylchlorid portionsweise geschüttelt wurde; sodann wurde filtriert, mit Salzsäure vorsichtig angesäuert, bis sich eben alle Benzoesäure abgeschieden hatte, die Benzoesäure gründlich mit Äther extrahiert, die wäßrige Lösung neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert und mit Bleizucker ausgefällt. Das Bleisalz wurde mit H_2S zerlegt, das Filtrat im Vakuum auf ein kleines Volumen eingeengt und der Kristallisation überlassen.

Von der 3 mal umkrystallisierten, im Exsiccator getrockneten Substanz verbrauchten bei der N-Bestimmung 0,2438 Substanz 10,9 ccm $^n/_{10}$-Säure. Berechnet: 6,27 % N. Gefunden: 6,27 % N.

Ihr Zersetzungspunkt liegt ungefähr bei 140° unter CO_2-Abspaltung. Beim Erhitzen über 187° färbt sie sich, entsprechend dem Verhalten der Hippursäure, rot.

Zwecks Hippursäurebestimmung wurde das Durchblutungsblut nach Schenck enteiweißt, nach Entfernung des Quecksilbers und des über-

[1]) Stolte, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5.

schüssigen Schwefelwasserstoffs das Filtrat schwach sodaalkalisch gemacht und bei niederer Temperatur zum Sirup eingeengt, der Sirup 24 Stunden mit reichlichen Mengen Alkohol zusammengebracht, filtriert, das alkoholische Filtrat mit etwas Wasser verdünnt, neuerdings auf seine alkalische Reaktion geprüft und eingeengt. Der wäßrige Rückstand nach Ansäuern mit Essigsäure mit Bleizucker ausgefällt, der Bleiniederschlag gewaschen. Filtrat und Waschwasser auf ein kleines Volumen eingeengt, mit Salzsäure versetzt und ausgiebigst mit Essigäther extrahiert.

Der Harn der vorher mindestens 14 Tage nur mit Kartoffeln gefütterten Kaninchen wurde analog verarbeitet, während des Einengens wurde streng auf alkalische Reaktion gesehen. Denn bei amphoterer Reaktion wird aus der ausgeschiedenen Benzoylaminomalonsäure schon zum Teil CO_2 abgespalten und Hippursäure künstlich erzeugt.

Kontrollbestimmungen mit dem Harn zugesetzter Hippursäure (0,5 g) erwiesen mir die Brauchbarkeit dieser Art des beschriebenen Vorgehens. Die Ausbeute betrug 90 %.

Im Zusammenhang mit dem Gedanken, die Aminomalonsäure möchte die Durchgangsstufe bei der Glykokollbildung darstellen, prüften wir auch das Verhalten der Glutaminsäure und Asparaginsäure bezüglich etwaiger Glykokollbildung im Durchblutungsversuch an der überlebenden Leber (Kaninchenleber mit Kalbsblut).

Erstere Substanz könnte auf dem Weg der β-Oxydation nach Knoop Aminomalonsäure bilden.

$$COOH.CH_2.CH_2.CH(NH_2).COOH \rightarrow COOH.CH(NH_2).COOH.$$

Die Asparaginsäure könnte ebenfalls durch einfache Kohlensäureabspaltung

$$COOH.CH_2.CH(NH_2).COOH$$

und Oxydation des gebildeten Alanins Aminomalonsäure resp. Glykokoll geben.

Die nach diesem Gesichtspunkt vorgenommene Untersuchung der Glutaminsäure und Asparaginsäure im Durchblutungsversuch auf etwaige Glykokollbildung ergab dafür keinen Anhaltspunkt.

Das Durchblutungsblut — es wurden bei jedem Versuch 4 g der Aminosäure als Natriumsalz der Durchblutung unterworfen —, das nach Schenk enteiweißt und analog dem obigen Verfahren auf Naphthalinsulfoglycin verarbeitet wurde, ließ solches vermissen. Wenn auch der Einwand berechtigt erscheint, daß etwa geringe Mengen neugebildeten Glykokolls sich durch Übergang in Harnstoff dem Nachweis entzogen, so

wurde von einer weiteren Verfolgung dieser Frage abgesehen nachdem das Verhalten der Benzoylprodukte, wie ja bereits Magnus-Levy gezeigt hat, wenig Erfolg versprach.

Nachdem somit das Studium der Aminomalonsäure[1]) und der damit in Zusammenhang stehenden erörterten anderen Fragen keine Aufklärung über die Bildung des Glykokolls im Tierkörper erbracht hat, prüfte ich noch eine andere Möglichkeit der Glykokollbildung, die wiederum synthetischer Art ist.

Wir wissen seit den bedeutungsvollen Arbeiten von Knoop, daß α-Keton- und Oxysäuren im Organismus eine Amidierung erfahren können, und weiter, daß mit diesem Amidierungsvorgang gleichzeitig eine Acetylierung verknüpft ist.

Sollte es dem Tierkörper nicht möglich sein, auch aus Aldehyden, etwa Glyoxal, unter Oxydierung der einen COH-Gruppe zur Carboxylgruppe bei Einwirkung von essigsaurem Ammonium eine Aminosäure zu bilden, in diesem Falle Glykokoll, wobei der Essigsäure vielleicht eine die Amidierung fördernde Rolle zukäme?

Um diese Annahme zu prüfen, führte ich einen Durchblutungsversuch aus an der überlebenden Hundeleber mit arteigenem Blut, dem 8 g Glyoxalnatriumbisulfit und 4 g essigsaures Ammonium zugesetzt wurde. Ich konnte keine Glykokollneubildung feststellen. Die Reaktionsprodukte des mit dem

---

[1]) Während vorliegende Versuche schon abgeschlossen waren — ihre Veröffentlichung verzögerte sich aus äußeren Gründen —, erschien eine Arbeit von Knoop (Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 1914), der derselbe Gedankengang zugrunde liegt und in der Knoop ebenfalls eine Glykokollbildung aus Glutaminsäure über die Zwischenstufe der Aminomalonsäure in Erwägung zieht. Knoop beabsichtigt, diese Annahme durch Verfütterung von N-Methylglutaminsäure zu prüfen. Knoop denkt ferner an eine Glykokollbildung aus Serin und glaubt, für die Richtigkeit dieser Annahme den Beweis erbracht zu haben damit, daß es ihm gelang, nach Verfütterung von 12 g Phenylserin aus dem Harn 2,6 g Hippursäure zu isolieren. Ich halte diese Beweisführung nicht für zwingend. Durch die Hippursäurebildung ist nur erwiesen, daß das Phenylserin $CH_5CHOH.CH(NH_2)COOH$ oxydiert und daß aus ihm Benzoesäure gebildet wurde. Unentschieden ist jedoch das Schicksal des $CH.NH_2.COOH$-Restes. Die Hippursäurebildung ist sehr wohl derartig zu denken, daß die gebildete Benzoesäure sich mit präformiertem Glykokoll oder glykokollbildendem Material, das nicht aus dem Phenylserin zu stammen braucht, vereinigt.

erwähnten Material beschickten Durchströmungsblutes mit β-Naphthalinsulfochlorid waren nicht erhöht gegenüber den Produkten, die wir bei Leerversuchen erhielten[1]).

Zusammenfassung.

Der Gedankengang Hofmeisters über den oxydativen Abbau des Eiweißmoleküls legt die Vermutung nahe, daß die Aminomalonsäure dabei ein intermediäres Stoffwechselprodukt darstellt. Entsprechend dem sehr labilen Verhalten der Aminomalonsäure im Reagenzglas, wo sie bereits bei längerem Stehen in salzsaurer Lösung oder in wäßriger Lösung schon unterhalb der Siedetemperatur unter CO_2-Abspaltung Glykokoll bildet, konnte sie als Vorstufe des Glykokolls im Tierkörper in Betracht kommen. Die nach dieser Richtung angestellte Untersuchung entsprach jedoch nicht dieser Annahme. Die Aminomalonsäure erwies sich als eine für das Atem- und Gefäßzentrum toxische und nicht leicht verbrennbare Substanz; es gelang nicht, weder in der isolierten Leber des Kaninchens und des Hundes — sowohl im Durchblutungsversuch des überlebenden Organes als auch mit Organbrei — noch am Gesamtorganismus den Nachweis zu erbringen, daß sie zur Glykokollbildung befähigt ist. Entsprechend diesem Verhalten ließ auch die Zufuhr von Benzoylaminomalonsäure eine Hippursäurebildung vermissen.

Ebenso ergaben Leberdurchblutungsversuche mit Glutaminsäure und Asparaginsäure, sowie mit Glyoxalnatriumbisulfit unter Zusatz von essigsaurem Ammonium in bezug auf Glykokollbildung ein negatives Resultat.

---

[1]) Ich stehe damit in einem gewissen Gegensatz zu den von Dakin und Dudley (Journ. of Biolog. Chemistry 18, Nr. 1, 1914) inzwischen publizierten Resultaten, die ebenfalls mit Glyoxal Durchblutungsversuche anstellten und in dem besten ihrer Durchblutungsversuche 0,1 g β-Naphthalinsulfoglycin erhielten. In Anbetracht dessen, daß sie in den Leerdurchblutungen ebenfalls Glykokoll finden, halten die Autoren es für möglich, daß Glycin aus Glyoxal gebildet wurde; aber es kann nicht als endgültig bewiesen angesehen werden.

Chemische Blutuntersuchungen an den Teilnehmern eines Armee-Gepäckmarsches.

Teil I.

Über Umsatz und Ausscheidung von Blutfarbstoff. Hämoglobinämie, Hämatinämie und Hämoglobinurie.

Von

Joh. Feigl.

[Mitbearbeitet von A. V. Knack und H. Koopmann.]

(Aus dem Chem. Labor. des Allgem. Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)[1]

(Eingegangen am 19. April 1916.)

Der II. Nationale Armeegepäckmarsch über 35 km wurde in Hamburg unter Leitung des Vereins für Bewegungsspiele und unter Protektion des Hauptausschusses für Körpererziehung am 17. Mai 1914 zugunsten der Deutschen Olympischen Spiele veranstaltet. Durch Übereinkunft eines Mitgliedes im Hauptausschusse, des Herrn Dr. med. J. Krieg, wurde die ärztliche Überwachung und Beratung mit der Leitung des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck (Direktor Prof. Rumpel) vereinbart[2].

---

[1]) Naturgemäß lagen die Ergebnisse der chemischen, physikalischen und mikroskopischen Blut- und Urinuntersuchungen bereits im Juni 1914 fertig vor. Die Zusammenstellung der Gesamtresultate dieses Arbeitsgebietes in Beziehung zu den rein medizinischen Befunden, und die Publikation wurden leider durch äußere Umstände im Zusammenhang mit dem Kriege bisher verzögert.

[2]) Bei dem im Jahre 1913 unter gleicher Organisation veranstalteten I. Nationalen Armeegepäckmarsch war die Leitung des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-St. Georg (Direktor Prof. Deneke) für die ärztliche Überwachung gewonnen worden. Mit Ausnahme einer Publikation zur Frage der Thermometrie von A. S. Lippmann, Deutsche med. Wochenschr. 1913, Nr. 31, ist über weitere klinische wie physiologisch-chemische Ergebnisse nach freundlicher Privatauskunft des Herrn Dr. med. J. Krieg und in der einschlägigen Literatur nichts bekannt geworden.

Von größtem Werte für die praktische Durchführung, ja für die Anwendbarkeit der neuaufgenommenen Methoden überhaupt, erwies sich die Vermittlung mit den Teilnehmern, die der genannte Arzt, unterstützt durch seine persönlichen Beziehungen zu den Verbänden und Vorständen der ausübenden Turn-, Sport- und Spielvereine verständnisvoll handhabte. Eine durchaus genügende Anzahl von Zivilisten und besonders Soldaten unterzog sich mit einsichtiger Bereitwilligkeit den Untersuchungen.

Den ersten kurzgefaßten Bericht über die physiologisch-chemischen Ergebnisse erstattete Verfasser dem ärztlichen Verein zu Hamburg [1]). Dabei wurde das Material im Rahmen einer Diskussion über Ätiologie und Formen der Nierenerkrankungen im Weltkriege unter dem Gesichtspunkte der Möglichkeit akuter Nierenschädigungen durch Überanstrengung kritisch verwertet.

Die Gesamtpublikation einschließlich vergleichender Besprechung an Hand der umfangreichen Literatur über das Arbeitsgebiet erfolgt später durch Verfasser in Verbindung mit E. Querner, der die Überarbeitung der klinischen Ergebnisse bewerkstelligt hatte [2]).

Einleitung.

Es war bei richtiger Organisation im Rahmen der praktischen Aufgaben Gelegenheit und Anlaß zur Einführung neuer physiologisch-chemischer Gesichtspunkte gegeben, an deren Aufstellung und Förderung Sportärzte wie -Verbände und Behörden, weiterhin auch Lehrkörper und militärische Instanzen, gleichermaßen interessiert sein dürften.

Sportübungen dieser Richtung, Radfahrten, Laufen, Wettgehen, besonders die Armeegepäckmärsche sind bereits früher

---

[1]) J. Feigl, Diskussion zum Vortrage von A. V. Knack, die Brightsche Nierenerkrankung im Kriege, Ärztl. Verein zu Hamburg, Sitzung vom 25. Jan. 1915. — An Stelle des unzutreffenden und zum Teil sinnstörenden Referats in der Münch. med. Wochenschr. 1916, Nr. 7, 242 sei auf das offizielle Sitzungsprotokoll in der Deutschen med. Wochenschr. verwiesen.

[2]) J. Feigl und E. Querner, Untersuchungen an den Teilnehmern eines Armeegepäckmarsches, Zeitschr. f. klin. Med. 1916.

das Experimentalfeld für die Bearbeitung vieler praktisch und theoretisch wichtiger Probleme gewesen und werden es naturgemäß auch in der nächsten Zukunft bleiben. Ein großer Teil der in der Literatur vorliegenden Ergebnisse bedarf sicherlich noch der Nachprüfung, Verallgemeinerung, Verbesserung und selbst Bestätigung. Weiterhin erheischen unsere Anschauungen über die stofflichen Umsetzungen bei dem Massendurchschnitt angepaßter und übermäßiger Marschanstrengung, — jede Kategorie für sich genommen, wie in vergleichender und gegensätzlicher Fassung, — Bearbeitung neuer Fragen an Hand der fortschreitend ausgestalteten biochemischen Methoden, die, je mehr sie dem Zuge der Entwicklung in die Mikrotechnik folgen, desto mehr auch ihre Eignung für die zu erwartenden Aufgaben erweisen werden. Hier sei der eminenten Fortschritte gedacht, die sich an die Namen Folin[1]) und Bang[2]) knüpfen, die uns auf verschiedenen Wegen umfassende mikrochemische Blut-, Gewebs-, Harnanalysenmethoden erschlossen; ferner haben auch S. R. Benedict[3]), Greenwald[4]), Mac Kim Marriott[5]), sowie Authenrieth[6]) diesen Kreis erweitert und bereichert.

In den Rahmen des biochemischen Arbeitsplanes wurden auf Anraten des Verfassers besonders Untersuchungen von Blut und Serum neu aufgenommen. Solche sind bisher nach unserer Kenntnis mit alleiniger Ausnahme von Zuntz und Schumburg in ihrer bekannten systematischen Monographie[7]), die ganz allgemein die Grundfragen aus der Physiologie, damit auch der Biochemie des Marsches, wohl in erster Linie mit Rücksicht auf normal trainierte Leistungen behandelt, im vorliegen-

---

[1]) O. Folin, Journ. of Biol. Chem. **11**, 529, 1912; ferner u. a. ebenda **1914**, 17, 487.

[2]) I. Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile, Wiesbaden 1916.

[3]) S. R. Benedict (Blutharnsäure), Journ. of Biol. Chem. **20**, 633, 1915. — Derselbe (Blutzucker), ebenda **20**, 61, 1915.

[4]) J. Greenwald (R. N.), Journ. of Biol. Chem. **21**, 67, 1915. — Derselbe (P.-Verteilung), ebenda **14**, 369, 1913; **21**, 29, 1915.

[5]) Mac Kim Marriott siehe Folin-Denis, Journ. of Biol. Chem. **18**, 262, 1914.

[6]) Authenrieth, Zusammenstellung zahlreicher colorimetrischer Methoden, Apparat von Hellige, Freiburg.

[7]) Zuntz-Schumburg, Physiologie d. Marsches, Bibliothek v. Coler.

den Gesamtgebiete nicht angestellt worden. Diese Forscher haben sich jedoch nur mit der Ermittlung des spezifischen Gewichts vom Vollblut im Hinblick auf die Umlagerungen des Wasserhaushalts als Folgeerscheinung der Marschanstrengung beschäftigt[1]).

Albu[2]), der erste Förderer systematischer Untersuchungen an Sportsleuten, ferner seine nächsten Mitarbeiter[3]) und die zahlreichen späteren Untersucher, Baldes, Heichelheim, Metzler[4]), Pfeiffer[5]), Fries[6]), Külbs und Brustmann[7]), Thiele[8]), Reber und Lauener[9]) haben diese Erweiterung des Arbeitsplanes ihrerseits nicht vorgenommen. Es ist dies auch, so lehrreich für den ausübenden Sportler, Turner usw. und so anregend und förderlich für den Biologen und Arzt die Schaffung neuer Gesichtspunkte und Arbeitshypothesen immer sein mag, durchaus begreiflich für jeden, der Hergang, sachliche und persönliche Verhältnisse von sportlichen Märschen, Läufen, Wettgehen, Bewegungsspielen u. dgl. aus eigener Anschauung kennt.

Naturgemäß tritt mit der Aufrollung weiterer Fragen und ihrer Beantwortung die Verpflichtung hervor, neugewonnene Ergebnisse sinngemäß eventuell zahlenmäßig mit den seit längerer Zeit bekannten, aus den bisher geübten Untersuchungsverfahren hergeleiteten, zu verknüpfen. Für den bei unserer Veranlassung befolgten Arbeitsplan war dies, wenigstens soweit die hier zunächst abgehandelten spektroskopischen Befunde über Veränderungen des Blutfarbstoffs in Betracht kommen, verhältnismäßig einfach durch die gegebene Beziehung zwischen der nach Art und Genese näher bestimmbaren Blutausscheidung im Urin und der Hämatolyse mit dem Auftreten von gelöstem

---

1) Ebenda S. 85.

2) Albu, Zeitschr. f. klin. Med. 78.

3) Albu und Caspari, Deutsche med. Wochenschr. 1908, 14.

4) Baldes, Heichelheim, Metzler, Münch. med. Wochenschr. 1906, 38.

5) Pfeiffer, Berl. klin. Wochenschr. 1908, 3.

6) Fries, Münch. med. Wochenschr. 1908, 13, 690.

7) Külbs und Brustmann, Zeitschr. f. klin. Med. 77.

8) Thiele, Deutsche med. Wochenschr. 1915, 48.

9) Reber und Lauener cit. nach Lohnstein. Zeitschr. f. Biol. 9, 1915.

Oxyhämoglobin bzw. dessen Abbauprodukten im Serum. So werden wir weiterhin neben den unter A besprochenen Ergebnissen der Serumuntersuchung im Abschnitt B die Befunde über Hämoglobinurie bzw. Hämaturie abhandeln und im dritten Teil C die beider Reihen einander gegenüberstellen, um eine durchsichtige Beziehung zu schaffen und sie der Pathologie der Marschüberanstrengung dienstbar zu machen.

A. Spektroskopisch-chemische Blutuntersuchung.

Nachstehend soll zunächst über die Beobachtungen zur Frage nach dem Verhalten des Blutfarbstoffes berichtet werden. Wir hatten uns die Aufgabe gestellt, mit Hilfe des Spektroskops das Serum auf Abbauprodukte des Hämochroms zu untersuchen. Unter Gesichtspunkten, die von Schumm[1]) und kürzlich auch vom Verfasser erörtert wurden[2]), ist dieses Vorgehen zurzeit der einzig gangbare Weg zur Auffindung geringgradiger pathologischer Veränderungen, deren Produkte im Serum angereichert werden können und so bei Innehaltung eines gewissen methodischen und technischen Untersuchungsganges relativ leicht faßbar sind. Als wichtigste Voraussetzung hat sich die sofortige gründliche Abtrennung der Formelemente ergeben. Wir zentrifugierten die Proben am Orte von Start und Ziel, in den Revierkrankenräumen in der Kaserne des 76. Infanterieregiments „Hamburg", sogleich, gossen das gewonnene Serum frei vom Zentrifugat ab, überführten es in eisgekühlter Packung ins Laboratorium und wiederholten in geeigneten kleinen Röhren dieselbe Behandlung energisch noch einmal, um sodann zur spektroskopischen Prüfung zu schreiten. Auf die bereits früher angedeuteten Vorsichtsmaßregeln bei der Entnahme — es hat sich besonders die Behandlungsart der Einstichfläche wie der Kanülen als sehr beachtenswert erwiesen — wurde erhöhter Wert gelegt[3]). Die Beobachtung vor dem Apparate geschah bereits etwa 3 Stunden nach der Entnahme; die von Herrn Schumm, der sich freundlicherweise mit Einsatz seiner wertvollen Apparate und langjährigen Erfahrungen für die vorliegenden Arbeiten interessierte, auf unsere Bitte in

[1]) O. Schumm, Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 159, 1913.
[2]) J. Feigl, diese Zeitschr. 74, 394, 1916.
[3]) O. Schumm, Münch. med. Wochenschr. 28, 1583, 1914.

einigen Fällen vorgenommene Nachprüfung ca. 10 bis 12 Stunden später.

Im einzelnen waren die angeschnittenen Fragen gerichtet auf Feststellung von 1. Oxyhämoglobin, 2. Methämoglobin, 3. Hämatin, 4. Gallenfarbstoff im Serum.

Für den Nachweis des Oxyhämoglobins stützten wir uns zunächst auf die Färbung der mit allen Kautelen gewonnenen Sera. Es liegt hier scheinbar ein Fall vor, bei dem die mehrfach betonte Ablehnung der subjektiven Farbbeobachtung von Seris doch betätigt wird; dies Vorgehen ist aber offenbar berechtigt, weil ja die qualitative wie quantitative Bewertung der objektiven Spektroskopie vorbehalten bleibt [1]. Sind normale Sera in der geschilderten Art schnell und gründlich vorbehandelt, so lassen sie bei der angegebenen Untersuchung mit voller Sicherheit noch in 5 cm Schichtdicke Andeutungen der beiden Oxyhämoglobinstreifen vermissen, ohne daß ein störender Einfluß physiologischerweise möglicher Farb- und Durchsichtigkeitsdifferenzen sich bemerkbar machte. Für unsere Versuche haben wir — wahrscheinlich kann einer solchen graduellen Abstufung zu Vergleichszwecken nur relativer, von der jeweiligen Apparatur in gewissem Umfange abhängiger Wert beigelegt werden — lediglich Beträge berücksichtigt, bei denen in 1 cm Schichtdicke eine durchaus deutliche Messung der maximalen Dunkelheit beider Oxyhämoglobinstreifen erzielbar war.

Die Signatur O_2Hb+ gilt als Schwellenwert dieses Grades der Nachweisbarkeit im nativen Serum. Die Bezeichnung O_2Hb++ entspricht mindestens einer Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur Grenze deutlicher Nachweis-

---

[1]) Belanglose bzw. irreführende Angaben auf Grund unkritischer Verwertung der reinen Farbbeobachtung: Kafka demonstriert ohne Rückhalt experimenteller Befunde ein gegen normales, sowie rein hämolytisches, abweichend gefärbtes Serum mit Schlußfolgerungen zur Theorie der Entstehung des Bronzepigmentes. Ärztl. Verein zu Hamburg, Sitzung vom 6. März 1916, Diskussion zum Vortrage von Fahr und Reiche über Morbus Addisonii. Schumm und Feigl haben bisher bei zahlreichen Addison-Seren abweichende Befunde (Mthb, Ht, Bilirubin, Melanogene) nicht beobachtet. Oelhafen demonstriert über Serumfarbe bei hämolytischer Anämie mit methodisch und sachlich unzureichenden, offenbar fehlerhaften (Schumm, l. c.) Angaben. Medizin-naturwissenschaftl. Verein zu Tübingen 1915, 15. Nov.

barkeit beider Streifen in 5 cm Schichtdicke, wobei vom Originalserum nur ca. $^1/_5$ dieses Betrages, d. i. etwa 0,2 cm Schichtdicke, erforderlich gewesen wäre — eine experimentell selbst bei sorgfältiger Beobachtung und präzisen Troggefäßen im Vergleichsverfahren nicht unbedenkliche, deshalb (weil ja auch umgänglich!) vermiedene Sache. O_2Hb +++ entspricht einem Betrage der die 10fache Intensität des Schwellenwertes darstellen, mithin zum mindesten eine Verdünnung von 1 : 10, nötigenfalls auch mehr gegen das reine Serum erfordern würde.

Die Messung des Methämoglobins ist auf den Rotstreifen mit der Wellenlänge $\mu\mu = 635$ unter Einschluß einer Beobachtung der spezifischen Rückbildungsreaktion zum Oxyhämoglobin zu beziehen. Der Nachweis des Hämatins ist von Schumm wie auch kürzlich vom Verfasser genauer behandelt worden [1], so daß hier nur an die in den Vordergrund gerückte Umwandlung zum Hämochromogen mit anschließender Einmessung des I-Streifens mit der Wellenlänge $\mu\mu = 615$ und die Skala zu erinnern ist. Auch über die gebotenen Maßregeln zum methodischen Nachweise der genannten Blutfarbstoffderivate nebeneinander bei einiger Rücksichtnahme auf Abstufung der relativen Mengenverhältnisse wurde ebendort genauer eingegangen. Die bisherigen Erfahrungen waren hier sinngemäß anzuwenden. Die spektroskopisch-chemischen Reagentien, ihre Auswahl, Handhabung und Anwendung wurden, wie bisher stets, hier unter besonderer Vorsicht benutzt.

Über unsere Instrumente resp. die apparativen Verhältnisse, unter denen die vorliegenden Untersuchungen angestellt wurden bzw. bei dem jetzigen Stande der Methodik allgemein angestellt werden können, ist vom Verfasser berichtet worden [2]. Hier ist noch zu erwähnen, daß die volle Entfaltung der Leistungsfähigkeit auch der besten Gitterapparate ganz auf die Handhabung des Spaltes in Verbindung mit der auf höchste Intensität gesteigerten Lichtquelle (Nernstlampe mit freiliegendem Glühlicht) angewiesen ist.

Die Mengenverhältnisse der zur Untersuchung benötigten Sera stellten sich unter Benutzung der Küvetten und Tröge mit planparallelen Wänden bei 2,5 cm innerer Länge, 0,3 cm

[1]) l. c.
[2]) l. c.

innerer Breite, ca. 1 cm Höhe der Füllung im Minimum auf etwa 1,2 ccm; bei 0,5 cm innerer Breite und im übrigen gleichen Maßen wurden ca. 2 ccm Serum erfordert. Größere Längenmaße, — diese werden allgemein als Schichtdicken benutzt, — verlangen entsprechend mehr Substanz. Es ist ersichtlich, daß selbst die Spektroskopie, die von den angewandten Blut- bzw. Serumuntersuchungsmethoden, absolut betrachtet, zwar das meiste, andererseits relativ immerhin wenig Material erforderte.

Der Nachweis des Bilirubins wurde nach einer, der von französischen Autoren angegebenen Methode der Cholemimetrie zugrunde liegenden qualitativen Reaktion, jedoch unter Verwendung von **Hammerstens** Reagens angestellt.

Tabelle I.

Spektroskopische Befunde im Serum.

Laufende Nummer	Start-Nummer	Gruppe M. = Militär Z. = Zivil	Serum: Vor dem Marsch	Serum: Nach dem Marsch O_2Hb	Nach dem Marsch Ht	Nach dem Marsch Bil	Bemerkungen
1.	2.	M.	Ohne Befund bezügl. O_2Hb, Ht, Mthb, Bil.	0	0	0	
2.	4.	M.		0	0	0	
3.	6.	M.		0	0	0	
4.	19.	Z.		+	++	0	
5.	22.	Z.		+++	0	0	
6.	24.	M.		0	0	0	Nur Blutuntersuchungen.
7.	27.	Z.		+	0	0	
8.	30.	M.		+	++	0	
9.	33.	M.		+	+	0	
10.	35.	M.		++	0	0	26. Mann am Ziel.
11.	37.	M.		+	0	+	
12.	45.	M.		0	0	0	
13.	49.	M.		+	0	0	24. Mann am Ziel.
14.	51.	M.		0	++	0	
15.	52.	M.		+	+	0	17. Mann am Ziel.
16.	56.	M.		++	+	0	
17.	59.	M.		0	0	0	Hat bei 25 km aufgegeben.
18.	68.	Z.		+	++	0	22. Mann am Ziel.
19.	71.	Z.		0	0	0	
20.	100.	Z.		0	0	0	
21.	137.	M.		0	0	0	
22.	86.	Z.	Ht eben nachweisbar	0	+++	0	
23.	12.	Z.	V. d. Marsch nicht untersucht	+++	0	0	
24.	77.	Z.		0	0	0	
25.	109.	Z.		0	+	0	Preisträger.
26.	118.	M.		0	0	0	
27.	156.	Z.		0	0	0	

In Tabelle I sind die spektroskopischen Ergebnisse einzeln dargestellt. Unter Bemerkungen finden sich weitere Nebenangaben. Vereinigt man nun die Serumbefunde gruppenweise in Beziehung zu den Untersuchungsterminen, vor Antritt bzw. nach Beendigung des Marsches, so erhält man folgende Übersicht, die Tabelle II wiedergibt und die überdies Anzahl und Verteilung (isoliert bzw. vergesellschaftet) umfaßt. Methämoglobin wurde in keinem, Bilirubin in einem Falle festgestellt.

Tabelle II.

Spektroskopische Serumbefunde, qualitativ und quantitativ. Verteilung auf die Untersuchungstermine.

Zeitpunkt der Entnahmen	Zahl d. Fälle	Spektroskopische Befunde											
		Überhaupt	Qualitativ			Quantitativ							
			O_2Hb allein	Ht allein	O_2Hb + Ht	O_2Hb +	O_2Hb ++	O_2Hb +++	Gesamt	Ht +	Ht ++	Ht +++	Gesamt
Vor dem Marsche (gesamt)	22	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Nach dem Marsche (gesamt)	27	15	6	3	6	8 [1]	2	2	12	4	4	1 [2]	9
Parallel-unter-suchungen	22	13	5	2	6	8	2	1	11	3	4	1 [2]	8
Einzel-unter-suchungen	5	2	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1

Die Tabellen lehren also, daß von 27 untersuchten Marschteilnehmern, die unmittelbar nach Ableistung der gesamten Marschstrecke bzw. nach Abbruch der Konkurrenz durch Aufgabe aus Ursachen der Überanstrengung am Ziel anlangten, nahezu die Hälfte ganz allgemein Blutfarbstoffbefunde aufwies und daß der größere Anteil an diesen von reiner Hämoglobinämie, nur ein geringer von reiner Hämatinämie, ein weiterer dagegen von gemischten Erscheinungen ausgemacht wird.

Über die graduelle Seite dieser Befunde belehrt uns die Tabelle II, und zwar u. a. in dem Sinne, daß einmal ein hoher

[1]) Ein Fall (Start Nr. 37) enthielt Bilirubin.

[2]) Vor dem Marsche bereits Ht + beobachtet.

Gehalt an Oxyhämoglobin von dem Vorliegen bzw. dem Grade der gleichzeitigen Hämatinämie unabhängig ist. Der höchste Wert der Hämoglobinämie bei lfd. Nr. 5, Start Nr. 22, sowie auch der nächstliegenden lfd. Nr. 23, Start Nr. 12, dazu lfd. Nr. 10, Start Nr. 35, lassen Hämatin ganz vermissen. Es gewährt dies also den Anschein, als ob beide Erscheinungen — diese Betrachtung gilt zunächst nur für den Zeitpunkt der Entnahme und könnte sich später ev. anders stellen — vielleicht die Voraussetzung verschiedenartiger ätiologischer Komplexe erfordern. Der Vorgang des Übertritts von Hämoglobin in das Serum ist von dem Zerfall dieses Moleküls unter Bildung des Hämatins im allgemeinen geschieden; auch bei den bisher beobachteten Hämatinämien auf toxikologischer Basis trifft das zu. Dieser Zusammenhang wurde u. a. vom Verf. bei der experimentellen Chloratvergiftung mit geringen Gaben dargetan. Es müßte also der zunächst physikalische Vorgang der Hämolyse von dem chemischen der Spaltung des Globin-Hämochromkomplexes getrennt aufgefaßt und diskutiert werden oder aber auch unter normalen Verhältnissen in vitro reproduzierbar sein.

Ferner ergibt die Übersicht, daß Hämatin insgesamt in 9 Fällen, isoliert in 3 Fällen zur Beobachtung kam. Für diese 3 Fälle muß nachgetragen werden, daß selbst in 3,3 bzw. 4 cm Schichtdicke (höchste zur Untersuchung vorhandene Serummengen!) keine Oxyhämoglobinstreifen zu erkennen bzw. zu messen waren.

Weiter ist von Interesse, daß in den Serumproben des Falles lfd. Nr. 4, Start Nr. 19, mit mäßigen, des Falles lfd. Nr. 16, Start Nr. 56, mit höherem O_2Hb-Gehalt in je 24 Stunden merkbare Abnahme (Verschwinden) des Oxyhämoglobins unter Zunahme des Hämatins bzw. unter weiterem Abbau dieser Substanz mit Auftreten vorher nicht nachweisbaren Bilirubins im Sinne der „anhepatischen Gallenfarbstoffbildung“ von v. d. Bergh und Snapper kaum zu konstatieren war[1]).

Es ist für die Bewertung der Ergebnisse wichtig, daß weder Schumm bei fortgesetzten speziellen Arbeiten in 20 bis 30 Stunden, noch auch Verf., der sich auf zahlreiche, aus Anlaß der Frage nach dem Vorkommen von Bilirubin in Ver-

[1]) v. d. Bergh und Snapper, Berl. klin. Woschenschr. 42, 1945.

bindung mit Querner[1]) vorgenommene Versuche zum spektroskopischen Nachweise des Hämatins stützen kann, weder in normalen Seris diese Substanz an sich unabhängig von Hämoglobinämien, noch in mehr oder minder hämolytischen, aber von andern pathologischen Einflüssen freien Seris Farbstoffzerfall unter den bekannten Kautelen bei erheblich längerer Frist beobachten konnten.

Natürlich repräsentieren diese Feststellungen nur den augenblicklichen Stand der Frage nach dem Auftreten, der Menge, den Schwankungen des Hämatins im normalen Blutserum. Versuche, unter gesteigerter methodischer und technischer Verfeinerung dem Ziele näher zu kommen, sind im Gange, aber bisher ohne jeden Erfolg geblieben.

Gegenwärtig sind die Hämatinämien unbedingt als pathologisch anzusprechen und werden es wohl auch dann bleiben, wenn sie später als vielfache Grade normaler Beträge gewertet werden müssen. Die rückläufige Synthese von Oxyhämoglobin aus künstlich abgespaltenem Hämatin und dem zugehörigen Globin ist von Menzies durch geglückte Versuche in vitro auch für den lebenden Organismus in den Kreis der Diskussion gerückt worden[2]). Wir besitzen sonach Anhaltspunkte für einen Hämatingehalt in normalen Seris nicht; doch haben sowohl Aron[3]) wie Bornstein und Müller[4]) sich in dem Sinne ausgesprochen, daß die Annahme des Vorkommens von Methämoglobin im normalen Blute nicht von der Hand zu weisen sei. Wenn man auch die Rückbildung zum Oxyhämoglobin einräumt, so kann doch eben dieses Methämoglobin, als wenigstens zeitweise zum toten Ballast geworden, eher den Anknüpfungspunkt für einen Zerfall mit dem Ziele Hämatinbildung abgeben. Im Sinne einer Hypothese könnten also die Erscheinungen geringgradiger Hämatinämien vielleicht als an dieses Zwischenprodukt geknüpft angesehen werden.

Die bisher beobachteten Hämatinämien sind zum großen Teile toxogener Natur. Es kann in Übereinstimmung mit Ver-

---

[1]) Untersuchungen 1913 bis 1916; noch unveröffentlicht.

[2]) J. A. Menzies, Chem. Centralbl. 1915, Nr. 22, S. 1105.

[3]) H. Aron, diese Zeitschr. 1906, 3, 13.

[4]) O. Bornstein und Fr. Müller, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1907, II, 471.

suchen in vitro vielleicht das Weiterwirken noch kreisenden Giftes an bereits frei gelöstem Oxyhämoglobin bzw. intermediär entstandenem Methämoglobin, ferner an die Schädigung der Stromata und die Bildung aus noch festgelegtem Farbstoff gedacht werden. Daneben stehen bakteriologische, mithin ihrerseits teils chemische, teils fermenthydrolytische Ätiologien, und endlich solche im Zusammenhang mit anderweitigen Blut- bzw. Organerkrankungen, Bildungs- bzw. Abbauanomalien durch Veränderung oder Ablenkung der Faktoren des intermediären Zell- und Gewebsstoffwechsels (hämolytischer Ikterus, Anämien, spez. die perniziöse, „Hämatinikterus", Vorstufen der anhepatischen Bilirubinbildung)[1].

Endlich seien für unseren Fall der Überanstrengung als weitaus wichtigst genannt Störungen im Wasser- und Salzhaushalt durch Schwitzen, schnellen Ausgleich durch Trinken, energische Durchspülung, Salzverluste und damit verbundene schwere Beeinträchtigung der osmotischen Verhältnisse, auf die sich die Resistenz der zelligen Elemente gründet. Diese Umwälzungen im Wasserstoffwechsel rücken wir an die erste Stelle der Ursachen und kommen später auf ihre Bewertung zurück; sie sind bereits von Schwyzer an einem Falle diskutiert worden[2].

Wie weit in dem vorliegenden Material die eine oder andere der ferneren Ätiologien zu verfolgen wäre, ist bei dem gegenwärtigen Stande schwer zu sagen; man wird das erst dann können, wenn ganz allgemein vergleichende Übersichten über die Einzelbefunde vorhanden sind und eine, auch den Sport- und Militärärzten sehr am Herzen liegende, weiter ausgedehnte Untersuchung nach dem Marsche zur Aufklärung des Restitutionsvorgangs häufiger durchgeführt würde. Chemische Momente der Autointoxikation im engeren Sinne können nach bisherigen Kenntnissen abgelehnt werden, da u. a. ein Anstieg des normalen Gehalts an Acetonkörpern nach Ausweis der Befunde bei (klinischen und experimentellen) diabetischen Acidosen in eindeutigen Fällen weder direkt Hämatin noch indirekt einen Abbau des Oxyhämoglobins im hämolytischen Serum ergeben hat. Wie da-

[1]) O. Schumm, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 32, 1916.
[2]) Schwyzer, Biochem. Centralbl. 16, 21, 1914.

gegen die gleichfalls chemisch zu erfassende Störung des Säuren-Basengleichgewichts zu wirken vermag, darüber wissen wir vorerst nichts, wenn auch die Änderung der Blutalkalescenz bzw. CO-Spannung als wahrscheinlicher Ausdruck von Alterationen zu gelten haben. Es ist zuzugeben, daß allgemein weitaus mehr an Ätiologien der dritten als der zweiten Gruppe, in speziellen Fällen auch an Komplikationen aus verschiedenen Voraussetzungen zu denken ist, endlich an ein explosionsartiges Auftreten latenter, ohne die schweren Erschütterungen nicht geweckter Anlagen. Diese Überlegung führt bereits in sportärztliche bzw. sporthygienische Gebiete, die uns hier kaum beschäftigen können, aber lehrt immerhin, daß mit einer schematischen Auffassung unserer Ergebnisse nicht viel gewonnen sondern von individueller Abwägung aller Befunde erst die Entscheidung zu erwarten ist.

Im ganzen genommen haben wir die Tatsache vor uns, daß bei forcierter Marschanstrengung bzw. Überanstrengung eine erhebliche Anzahl der Teilnehmer mit Umsetzungen im Bestande des Blutfarbstoffs zurückkehrt. Hämoglobinämie sowie Hämatinämie werden für sich wie gemeinschaftlich beobachtet.

B. Chemische und mikroskopische Blutbefunde im Urin.

Die früheren Untersucher haben bereits die Bedeutung des Nachweises von Blut im Urin betont und im Sinne einer nephrogenen Auffassung gedeutet und verwertet. Es kommen zwei prinzipiell verschiedene Untersuchungsformen in Frage, die der Gegenüberstellung von Hämaturie bzw. Hämoglobinurie entsprechen.

Die durch Zentrifugieren gewonnenen Sedimente wurden mikroskopisch eingehend auf Anwesenheit von Erythrocyten durchmustert. Eine geringe Menge nicht entmischten Urins wurde zunächst der Benzidinprobe unterworfen, und zwar einer Modifikation derselben, die von A. V. Knack im Zusammenhange mit seinen länger fortgesetzten methodischen Arbeiten über den Blutnachweis empfohlen wurde, und die sich im Rahmen der Nierenforschung bewährt hat[1]).

[1]) A. v. Knack, Ärztl. Vereinigung Hamburg, Deutsche med. Wochenschr. 1914, 31.

Ihrem Wesen nach bevorzugt auch diese Ausführungsform die Erythrocyten bzw. den in ihnen festgelegten Farbstoff, weil die Art der Ausschüttelung zur quantitativen Gewinnung des frei gelösten Hämochroms weder ausreicht noch prinzipiell auf eine solche abzielt. Für diesen Fall — der gleichermaßen frei gelöstem Hämoglobin, Methämoglobin wie Hämatin gerecht wird — verwandten wir die bewährte Vorschrift von Schumm, die ziemlich viel (30 bis 50 ccm) stark essigsauer gemachten Urins und gründliche Extraktion mit viel Äther verlangt, dafür aber gerade in unserem Anlasse zwei Vorzüge mit sich brachte[1]). Einmal gestattete sie ein teilweises Eindunsten des ätherischen Extrakts unter Volumverringerung (in der Kälte durch einen Fönblasapparat). Ferner bedurften wir der Ätherextraktion (resp. einer anschließenden Destillation) ohnehin bei der Untersuchung auf Acetonkörper. Es wurden indes nur zweifelsfreie Befunde an Hand künstlicher Versuchsgemische (abgestufte Blutlösungen in Wasser und Urin) berücksichtigt und zudem die parallel mit Blutuntersuchungen bearbeiteten Proben hier auch technisch bevorzugt.

Die Befunde sind auf Tabelle III verzeichnet. Die graduelle Abstufung S + bzw. S ++ ist der Menge des Blutes entsprechend nach dem Ausfalle der Farbstärke im Vergleich zu reinen Hämoglobinlösungen ungefähr geschätzt. Ebenda sind unter E + die Befunde von Erythrocyten bei der mikroskopischen Untersuchung eingetragen.

Aus der Reihe der weiteren Urinuntersuchungen seien hier folgende angeführt. Dichte, Alkalität bzw. Acidität (qualitativ bzw. quantitativ nach Folin bzw. Moritz), Acetonkörper (Aceton nach Frommer und Acetessigsäure nach der Eisenmethode); reduzierende resp. optisch aktive Substanz durch Kupfer-(Benedict) und Wismut-(Nylander)proben wie durch Polarisation, Eiweiß mit Einschluß quantitativer Bestimmung, qualitativ durchgehend nach der für die Beurteilung bevorzugten Essigsäurekochprobe, die gelegentlich durch das Reagens Spiegler, häufig durch die Salpetersäureschichtprobe erweitert wurde — bildeten das analytisch-chemische Programm. Schon

[1]) O. Schumm nach Lenhartz-Meyer, Chemie und Mikroskopie am Krankenbett, Berlin 1913.

diese Übersicht zeigt, daß ein strenges Schema für die analy tische Handhabung nicht aufzustellen war, da nur in wenigen Fällen für alle Methoden genügend Urin verfügbar gehalten werden konnte. Es mußte, nur von Fall zu Fall entscheidbar, eine Fragestellung zugunsten einer andern hintangesetzt werden. Natürlich ließen sich derartige Untersuchungen nicht ausschließlich nach programmatischen Gesichtspunkten erledigen, wie sich schon daraus ergibt, daß bei dem Vorwalten des rein sportlichen Interesses, der Überfüllung der Untersuchungsräume, der Schwierigkeit, die Leute zusammenzuhalten, wieder, und zwar gleich beim Ziel, aufzufinden, sie zum Zwecke der Blut- und Urinentnahmen zu belehren und zu beeinflussen. Immerhin gelang dies bei dem offensichtlich in vielen Fällen vorhandenen guten Willen, der Einsicht sowie der Sachkunde und Unermüdlichkeit unseres Wärterpersonals ziemlich vollkommen. Angaben wie diese seien, wenn auch in aller Kürze, beigefügt, weil sie in erster Linie späteren eigenen Arbeiten resp. anderen Nachuntersuchern — die dabei vor eine Fülle kleiner oder größerer Schwierigkeiten örtlicher oder persönlicher Natur treten werden — Fingerzeige zu geben, vielleicht brauchbar sind.

C. Gegenüberstellung der Untersuchungsergebnisse in Blut und Urin.

Aus dieser tabellarischen Anordnung (S. 103) ergeben sich ohne erläuternde Zusätze folgende Gegenüberstellungen.

I. Geht man aus von der Anzahl positiver Befunde der chemischen Blutuntersuchung im Urin — 19 Fälle —, so findet man, daß 12 von diesen spektroskopische Befunde im Serum zeigten, 9 Oxyhämoglobin bzw. Oxyhämoglobin vergesellschaftet mit Hämatin, und nur 3 Hämatin allein, während 7 ein von diesen Stoffen freies Serum aufwiesen.

II. Kombiniert man nunmehr die positiven Befunde des chemischen Nachweises im Urin mit denen, die im Serum Oxyhämoglobin allein oder Oxyhämoglobin gemeinsam mit Hämatin hatten — 9 Fälle —, so ließ sich in 7 Beobachtungen das Fehlen, und in 2 die Anwesenheit von Erythrocyten dartun.

III. Stellt man dagegen die Befunde mit positivem Ausfall der chemischen Blutprobe im Harn zusammen mit negativem Ausfall der spektroskopischen Prüfung, d. h. Blut im Harn bei

Tabelle III.
Spektroskopische bzw. chemische und mikroskopische Befunde im Serum bzw. im Harn.

Laufende Nummer	Start-Nummer	Befund im Serum		Befund im Harn	
				Blutnachweis (chemisch)	Blutnachweis (mikroskopisch) Erythrocyten
1	19	O_2Hb	Ht	S ++	0
2	22	O_2Hb	—	S +	0
3	24	O_2Hb	—	0	0
4	30	O_2Hb	Ht	S ++	0
5	33	O_2Hb	Ht	S +	0
6	35	O_2Hb	—	S +	—
7	36	—	Ht +++[1]	S +	0
8	37	O_2Hb	—[3]	0	0
9	49	O_2Hb	—	S +	E +
10	51	—	Ht	S ++	0
11	52	O_2Hb	Ht	S +	0
12	56	O_2Hb	Ht	0	0
13	68	O_2Hb	Ht	S ++	E +
14	12[2]	O_2Hb	—	S +	0
15	109[2]	—	Ht	S +	E +
16	2	—	—	0	—
17	4	—	—	S +	E +
18	6	—	—	0	—
19	24	—	—	[4]	[4]
20	45	—	—	S ++	0
21	59	—	—	S +	E +
22	71	—	—	S ++	E +
23	77	—	—	S +	0
24	100	—	—	0	0
25	118	—	—	S +	E +
26	137	—	—	S +	E +
27	156	—	—	0	0

normalen Serum — 7 Fälle —, so zeigt sich, daß 5 von diesen Erythrocyten, somit auch mikroskopisch Blut enthielten, was bei 2 weiteren nicht der Fall war.

Kurz zusammengefaßt besagt dies, daß von den Trägern hämolytischer bzw. hämatinhaltiger Sera ca. 66% gelösten Blutfarbstoff im Harn unter Ausschluß von Erythrocyten führen; daß von Fällen, in denen

[1]) Hatte vor Antritt des Marsches einen an der Grenze der Nachweisbarkeit liegenden Hämatingehalt im Serum.

[2]) Spektroskopische Untersuchung nur nach dem Marsche.

[3]) Hatte außerdem Bilirubin im Serum.

[4]) Urinuntersuchung fehlt.

beide Forderungen erfüllt sind, fast 80% nur gelösten Blutfarbstoff, der Rest auch Erythrocyten im Harn zeigen; daß endlich die Träger normaler Sera und positiver Blutbefunde im Harn zu über 70% bei der mikroskopischen Untersuchung Erythrocyten erkennen lassen.

Vorstehende Darlegung erlaubt, unsere Ergebnisse in dem Sinne zu verwerten, daß die Blutbefunde im Urin zum größeren Teile unabhängig von Schädigungen der Niere usw. zu deuten, sie vielmehr auf den hämolytischen Vorgang, der im Serum zur Beobachtung kommt, zu beziehen sind.

Einer solchen Auffassung könnte auch die Gegenüberstellung der verschiedenen analytischen Feinheit resp. Ergiebigkeit des chemischen Blutnachweises im Vergleich zur Mikroskopie der zelligen Elemente kaum Abbruch tun. Weiter ist von Interesse, daß die bisherige Entwicklung der Untersuchungen zur pathologischen Physiologie des Sports einen gewissen Rückgang in der den Albuminbefunden im Harn beigelegten Bedeutung verzeichnet[1]). Man hat durch Untersuchungen einmal der heranwachsenden Jugend in Schulen, ferner von Rekruten bei der Einstellung wie auch von militärischen Verbänden im laufenden Friedensbetriebe wie im kriegerischen Grenzschutzdienst statistisches Material gewonnen, das die ansehnliche Ausbreitung geringgradiger Albuminurien zeigt und damit Kritik an den bei der sportlichen Überanstrengung beobachteten Befunden zu üben gestattet. Da diese durch die gemachten Erfahrungen bei Paralleluntersuchungen weiter eingeschränkt werden, verliert die Albuminurie als Maßstab und Wertmesser der sportlichen Nierenschädigungen an Beweiskraft. Wenn andererseits die ziemlich zahlreichen Befunde an Cylindern und Cylindroiden im Harnsediment — die Aufstellung der Einzelergebnisse und ihre vergleichsweise Bewertung findet sich in der Gesamtpublikation, auf die in dieser Hinsicht verwiesen sei — auch scheinbar einen Widerspruch gegen die einschränkende Beurteilung der Albuminurie enthalten, so sei dem die Auffassung namhafter Sportärzte entgegengestellt, nach der eine plötzliche und energisch einsetzende, physikalische Ausschwemmung ohnehin abgenutzter

[1]) J. Feigl, l. c.

Elemente angenommen wird. Damit wird denn die Aufmerksamkeit der Beobachter zunächst auf weitere Urinbefunde, später auf Vorgänge im intermediären Zellstoffwechsel gelenkt.

Bei der Bemühung, hierfür Material zu beschaffen, haben wir Aufschlüsse durch Untersuchungen im Serum bzw. an den Umsetzungen des Blutfarbstoffs gewonnen.

Innerhalb des vorstehenden Gedankenganges findet auch die von Schumm[1]) mitgeteilte, von uns an reichlichem Material fortgeführte Beobachtung Raum, daß bei hämorrhagischen Nephriten — unter Ausschluß weiterer pathologischer Anlässe — Oxyhämoglobin und Hämatin im Serum dem Nachweise nicht zugänglich waren.

Der Umfang, in dem diese Sporthämoglobinämie bzw. -Hämatinämie zur Beobachtung kommen kann, ist sicher von einer ganzen Zahl innerer und äußerer Zufälligkeiten abhängig, — innerer — dem allgemeinen Körperzustande und der momentanen Körperfassung, — äußerer — der Wetterlage, der sportlichen Aufgabe. Die Einordnung aller physischen und psychischen Kräfte zur Entfaltung der Höchstleistung lehrt das Training. So werden die Befunde schwanken und verschieden ausfallen mit der Zusammensetzung des „Feldes" aus Wettgehern und Gepäckmärschlern, Vertretern verwandter Sportarten, die dem einzelnen an sich oder durch persönliche Vorliebe die Beteiligung nahelegen, endlich aus aktiven und gedienten Soldaten. Diese letzteren sind es auch, die über die größeren Erfahrungen in der Tragweise des nicht unerheblichen Gepäckes samt Waffe und Koppelzeug verfügen.

Daß hierin ein wichtiger Faktor für die sportliche Ergiebigkeit der Marschiertechnik liegt, ist sicher. Ebenso können damit vom rein wissenschaftlichen, pathologisch-physiologischen Standpunkt aus Betrachtungen verknüpft werden. Einen extremen Fall, der hier von Interesse ist, lernten wir aus einer, ein halbes Jahr nach unserem Marsche publizierten Untersuchung von Porges und Strisower kennen[2]). Diese Forscher hatten Gelegenheit, einen jungen Mann zu beobachten, der bei der kleinsten Gehleistung (selbst 10 Minuten genügten) in

[1]) l. c. Zahlreiche Beobachtungen von Soldaten hiesiger Lazarette, durch Vermittlung der Herren Dr. Alexander, Reinhardt, Krieg.

[2]) Porges u. Strisower, Arch. f. klin. Med. 1914.

lordotischer Haltung starke Hämoglobinurie und, wie ferner nachgewiesen werden konnte, Hämoglobinämie zeigte. Diese Erscheinung wurde durch einen zwingend gestalteten Gegenbeweis beim Gehen in kyphotischer Haltung völlig ausgeschlossen. Wenn die Lehren aus diesem Falle, der „Marschhämoglobinurie", allgemeiner Verwertbarkeit für die Frage des sportlichen Wettgehens und militärischen Marsches auch nicht fähig sind, so sind sie doch theoretisch von Bedeutung, hier und da auch in praktischer Hinsicht, wo bei unsachgemäßer Trageweise des Gepäckes Einflüsse ausgelöst werden, die zu ähnlichen Wirkungen führen könnten. Porges und Strisower nehmen an, daß ein abnormer vasomotorischer Reflex die Milzdurchblutung beeinflußt, wodurch es zu einer Steigerung der Hämatolyse kommt. Durch die Überschwemmung des Blutes mit Hämoglobin wird die Toleranz der Leber überschritten, und es kommt zur Hämoglobinurie.

Die Kenntnis von den Umsetzungen und Abwandlungen, die nach unseren Befunden in der Blutbahn am Blutfarbstoff manifest werden, regt naturgemäß zu Betrachtungen über die Beteiligung anderer Organe an. An diesem Punkte wäre die Verknüpfung mit dem Falle der lordotischen Marschhämoglobinurie zu suchen. Vielleicht darf man diese Überlegung nach den neuen Ergebnissen Ashers, der den Abbau des Hämochroms bei Zusatz von Leber- bzw. Milzextrakt lebhaft vor sich gehen sah, mit der Möglichkeit vorübergehender Störungen in den spezifischen Funktionen dieser Organe verbinden[1]).

Naturgemäß verlangen unsere Befunde die Einbeziehung weiterer Untersuchungsmethoden. Bereits eingeleitete tierexperimentelle Arbeiten mußten vorübergehend abgebrochen werden.

---

[1]) L. Asher und G. Ebnöther, Centralbl. f. Physiol. 30, 2, 61, 1915.

Hydrotropische Erscheinungen.

I. Mitteilung.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der Chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für Experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Die wäßrigen Lösungen zahlreicher Salze besitzen die in folgendem beschriebene, eigentümliche Fähigkeit, in Wasser unlösliche Substanzen in wäßrige Lösung überzuführen. Diese Eigenschaft soll als Hydrotropie bezeichnet werden. In diesem Sinne hydrotropische Substanzen sind z. B. die Salze der Benzoesäure, der Benzolsulfosäure, ihrer beider Homologen und ihrer Substitutionsprodukte, der Naphtoesäuren und ihrer Derivate, der Naphtalinsulfosäuren, der Tiophencarbonsäure, der Brenzschleimsäure, der Phenylessigsäure und homologer fett-aromatischer Säuren usw. Besonders ausgeprägt ist die hydrotropische Fähigkeit von Salzen hydroaromatischer Säuren, wie der Naphtensäuren, die vom Cyclopentan sich herleiten, und der komplizierteren Abietin- und Sylvinsäure, die als Abkömmlinge des Hydroretens aufgefaßt werden. Die Hydrotropie äußern diese Salze gegen wasserunlösliche Substanzen der allerverschiedensten Körperklassen, wie gegen Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ketone, Ester, Nitrokörper und Basen der aliphatischen und aromatischen Reihe, ferner gegen das Polysaccharid Stärke, gegen Alkaloide, Proteine, Farbstoffe, Fette, Lipoide und dgl.

Folgende Beobachtung hat den Anstoß zur Auffindung und zum näheren Studium der hydrotropischen Erscheinungen gegeben. Vor 6 Jahren kam ich gelegentlich anderer Unter-

suchungen über Rinderurin[1]) in den Besitz eines Bullenharns, der eine eigentümliche olivgrüne, an das Biliverdin erinnernde Färbung aufwies. Da dieser Farbstoff noch wenig bekannt ist, so wurde ein Versuch zu seiner Isolierung unternommen. Zu diesem Zwecke wurden 10,5 l des alkalisch reagierenden Harns im Vakuum eingeengt und mit heißem Alkohol ausgezogen, worin Biliverdin löslich ist. In die alkoholischen Auszüge ging die olivgrüne Färbung tatsächlich über. Der Alkoholextrakt wurde dann durch Einengen vom Alkohol wieder völlig befreit und der trockene, salzartige Rückstand in wenig lauwarmem Wasser gelöst. Bei dem Versuch, die färbende Substanz durch Amylalkohol zu extrahieren, machte ich die überraschende Beobachtung, daß die wäßrige Lösung in jedem Verhältnis mit Amylalkohol mischbar war. Die Homogenität der Flüssigkeit wurde erst durch einen sehr reichlichen Zusatz von Wasser aufgehoben. Die Sonderung in Schichten erfolgte nur bei solch beträchtlichem Wassergehalt, daß der Erscheinung unzweifelhaft eine besondere Ursache zugrunde liegen mußte. Außer kleinen Mengen anorganischer Substanzen und der färbenden Materie konnten in dem alkoholischen Auszug im wesentlichen nur Harnstoff und Salze der Benzoesäure, der Hippursäure sowie Verbindungen der Harnphenole zugegen sein. Der Farbstoff sowie das eigentümliche Verhalten zum Amylalkohol ließen auch an Gallenbestandteile denken; denn für diese war eine absonderliche Lösungskraft, wenn auch nicht gerade für Amylalkohol, bekannt. Der Harn war jedoch vollkommen frei von gallensauren Salzen, und die olivgrüne Färbung hat sich später als ein ganz triviales Gemisch von Indigo mit jenem braunen Pigment erwiesen, das häufig beim Stehen in phenolreichen Harnen auftritt. Die systematische Untersuchung ergab dann alsbald, daß von den im verdampften Alkoholextrakt vorhandenen Bestandteilen der Harnstoff in wäßriger Lösung kein Lösungsvermögen für Amylalkohol besitzt, daß aber diese Eigenschaft in ausgesprochenem Maße den drei anderen Begleitern zukommt, dem Phenolat, dem Benzoat und dem Hippurat.

Es zeigte sich ferner, daß dieses abnorme Lösungs-

[1]) C. Neuberg u. A. Hildesheimer, diese Zeitschr. 28, 525, 1910.

vermögen einer wäßrigen Lösung von benzoesaurem oder hippursaurem Natrium und von Natriumphenolat sich nicht nur auf Amylalkohol erstreckt, sondern auf eine große Anzahl anderer Substanzen, die mit Wasser nicht mischbar sind oder von ihm gar nicht oder kaum gelöst werden. Zunächst wurden weitere gebräuchliche Extraktionsmittel untersucht, wie Essigäther, Benzylalkohol, Nitrobenzol, Anilin und Chinolin. Alle diese genannten Körper werden von wäßrigen Lösungen der Benzoate, Hippurate und der Alkaliphenolate mehr oder minder leicht aufgelöst.

Wenngleich ich mich mit diesem Gegenstande seither nur jeweils nach größeren Pausen habe beschäftigen können, so hat sich doch durch viele Hunderte von Versuchen ein so beträchtliches experimentelles Material angesammelt, daß seine Bekanntgebung angebracht erscheint. Dasselbe lehrt, daß die Hydrotropie eine sehr weit verbreitete Eigenschaft bestimmter wäßriger Salzlösungen ist. Zunächst ergab sich, daß die Natur des Kations unwesentlich ist; denn Kalium-, Natrium- oder Lithiumsalze zeigen die gleiche Fähigkeit. Von Bedeutung ist nur, soweit sich bisher übersehen läßt, der Grad der Löslichkeit in Wasser. Denn im allgemeinen — aber nicht immer[1]) — ist die hydrotropische Kraft um so größer, je stärker konzentrierte wäßrige Lösungen sich herstellen lassen. Jedoch auch in den verdünnten Lösungen ist die Hydrotropie wirksam und nachweisbar.

Die anfängliche Vermutung, daß die hydrotropischen Erscheinungen der Benzoate vielleicht mit ihrem Charakter als Salze einer schwachen Säure zusammenhängen und auf die Benzolreihe sich beschränken möchten, führte zu Versuchen mit der stärker saueren Benzolsulfosäure und 1,4 Toluolsulfosäure. Die Hydrotropie der Benzolsulfonate oder der homologen Toluolsulfonate ist nicht geringer als die der Benzoate. Damit entfiel die Berechtigung der einfachen Vorstellung, daß etwa das benzoesaure Natrium — hinsichtlich der physikalischen Eigenschaft eines Lösungsvermögens für wasserunlösliche Substanzen — sich verhalte wie ein Benzol, das lediglich durch

[1]) s. S. 157 bis 159 beim Verhalten des abietinsauren und sylvinsauren Natriums.

Salzbildung an der Carboxylgruppe in Lösung gebracht sei und noch versteckt die Lösungskraft des Benzols aufweise. Eine solche Annahme wurde weiter unhaltbar, als die Auflösbarkeit auch von Substanzen wie Eiweißkörpern, Stärke, Alkaloiden und anorganischen Salzen erkannt wurde, die sich in Benzol gar nicht oder kaum lösen. Es mußten demnach andere Einflüsse am Zustandekommen der seltsamen Erscheinungen mitwirken. Um ihnen auf die Spur zu kommen, wurde eine große Reihe von Benzolabkömmlingen und namentlich von Substitutionsprodukten der Benzoesäure untersucht. Als hydrotropisch erwiesen sich z. B. Benzolsulfinsäure und 1,4-Toluolsulfinsäure, ferner die Nitrobenzoesäuren, die Amino-, Halogen-, Oxy- und Methoxyderivate der Benzoesäure in Form ihrer Alkalisalze.

Das eigenartige Verhalten beschränkt sich aber nicht auf die Benzolreihe, es tritt in gleicher Weise bei Naphtalincarbonsäuren und Naphtalinsulfosäuren zutage. Es wurde ferner festgestellt für Derivate der hydro-aromatischen Reihe, wo es besonders entwickelt ist, weiter für den Tiophenring und den Furankomplex. Es findet sich in ausgeprägter Weise bei den fett-aromatischen Säuren der Phenylessigsäure und ihrer Homologen — auch bei Oxysäuren und ungesättigten Säuren wie bei der Mandelsäure und Zimtsäure — und schließlich auch in der aliphatischen Reihe bei der Essigsäure bzw. bei ihren Homologen sowie Substitutionsprodukten und erreicht hier allem Anscheine nach bei den Gliedern mit 5 und 6 Kohlenstoffatomen eine maximale Höhe. Schon jetzt sei erwähnt, daß auch amylschwefelsaure Alkalien kräftig hydrotropisch wirken.

Es ist vorläufig schwierig, aus der Fülle der Erscheinungen, welche die experimentellen Daten darbieten, die zugrunde liegenden Gesetze zu erkennen. Es sollen daher zunächst nur die Tatsachen mitgeteilt werden, um so mehr als diese sowohl eine gewisse physiologische Bedeutung beanspruchen dürften und auch ein praktisches Interesse erlangen könnten.

Zunächst verdient der Umstand Beachtung, daß die Hydrotropie eine Erscheinung ist, die sich an den drei Hauptklassen der organischen Bau- und Nährmaterialien, an Eiweißkörpern, Fettstoffen und Polysacchariden, aber auch an den Untergruppen (ätherischen Ölen, Alkaloiden, Farbstoffen) abspielt. Bemerkens-

wert ist sodann die Tatsache, daß die hydrotropische Kraft sich stark bei solchen Salzen offenbart, die im Stoffwechsel der Tiere und Pflanzen Bedeutung haben. Mit hydrotropischem Lösungsvermögen sind nämlich die Salze solcher Säuren ausgestattet, die im Darmkanal beim bakteriellen Abbau der Eiweißkörper entstehen: die Benzoesäure, die Phenylessigsäure, die Phenylpropionsäure, die Phenolate (die Alkalisalze der Phenole und Kresole) und die Fäulnisprodukte der aliphatischen Aminosäuren, d. h. die Fettsäuren von der Essigsäure bis zur Capronsäure. Ihnen reihen sich an die im Stoffwechsel des Pferdes[1]) auftretende p-Oxybenzoesäure und die im Kuhharn[1]) gefundene m-Toluylsäure. Jene Substanzen werden im Verdauungskanal gebildet und sind wegen der dort herrschenden alkalischen Reaktion als Natriumsalze zugegen. Ein eigener Versuch mit dem Gesamtgemisch der Eiweißfäulnissäuren, die nach den Angaben von C. Neuberg und E. Rosenberg[2]) aus Casein dargestellt waren, hat ein beträchtliches hydrotropisches Vermögen für das mit Natronlauge genau neutralisierte Gemenge ergeben. Nicht unerwähnt soll bleiben, daß auch die Alkalisalze der durch Kohlehydrat- und Eiweißfäulnis so reichlich entstehenden Buttersäure stark hydrotropisch wirken. Da diese Substanzen Fett und Lecithin lösen, wie man in üblicher Weise leicht an Milch und Eigelbsuspension oder auch direkt an trüben Lecithinaufschwemmungen zeigen kann, da sie auch unlösliche Eiweißkörper in Lösung bringen, da sie zum Teil in der Kälte Stärke verkleistern sowie Alkaloide und ätherische Öle in wäßrige Lösung überführen können, so wird man mit der Möglichkeit rechnen müssen, daß die Hydrotropie bei den Vorgängen der Verdauung und Resorption mitwirkt und ganz allgemein der Zelle die Möglichkeit bietet, ein homogenes Milieu nach Bedarf herzustellen. Als bemerkenswert darf hervorgehoben werden, daß die Benzoesäure auch nach erfolgter physiologischer Paarung mit Glykokoll, als Hippursäure, noch hydrotropisch wirkt. Da alle diese hydrotropischen Substanzen leicht diffusibel sind, durchdringen sie die Darmwand und kreisen im Organismus, wie ihre Ausscheidung durch den Harn lehrt. Es ist daher

---

[1]) Literatur s. bei C. Neuberg, Der Harn, S. 501.

[2]) C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 7, 178, 1907.

möglich, daß sie auch nach der Aufsaugung aus dem Darmrohr im Blut und in den Organen, zumal bei lokaler Anhäufung, ihre Hydrotropie zu äußern imstande sind.

Im Stoffwechsel der Pflanzen treten teilweise dieselben Säuren auf. Die Salze von vier Säuren, die als Bestandteile der fett- und ölbildenden Gewächse oft angetroffen werden, sind außerdem untersucht worden, die Salze der Valeriansäure (und zwar des natürlichen Gemisches von Isopropylessigsäure und d-Methyläthylessigsäure), die der Zimtsäure, Abietinsäure und Sylvinsäure. Überall wurde kräftige Hydrotropie festgestellt.

Benzoesäure, Zimtsäure, Valeriansäuren und die Säuren der Abietingruppe, zu denen auch die Sylvinsäure gehört, sind häufige Bestandteile der pflanzlichen Sekrete. Wie Tschirch hervorgehoben hat, sind Harze und ätherische Öle oftmals vergesellschaftet. Wenn vielleicht auch die Sekrete an ihren ursprünglichen Entstehungorten liegen bleiben, so werden doch nach der Ansicht verschiedener Autoren lipoide Stoffe in den Pflanzen über weitere Strecken bewegt. Man darf wohl vermuten, daß bei solchen Transporten hydrotropische Erscheinungen mitwirken, um so mehr, wenn man die eigentümlichen, fast kritischen Einflüsse von Konzentration und Temperatur (s. S. 145, 150, 156, 158, 159) betrachtet, die für Eintritt und Beendigung der Hydrotropie maßgebend sind. Unterhalb und oberhalb bestimmter Temperaturen scheiden sich gelöste Lipoide aus, und in gleichem Sinne wirken Änderungen in der Konzentration. Die in den ätherischen Ölen und Harzen esterartig gebundenen Säuren zeigen in Salzform meistenteils kräftige Hydrotropie und lösen gerade die mit ihnen verbundenen alkoholischen Paarlinge. Kaum dürfte der fertige Ester als primäres Produkt der Assimilation oder des Abbaues gelten; die vielleicht enzymatisch vollzogene Vereinigung der Komponenten könnte durch den hydrotropischen Effekt erleichtert werden. Jedenfalls verfügen auch die pflanzlichen Organismen über Substanzen, mit deren Hilfe sie unlösliche Verbindungen im Bedarfsfalle in wäßrige Lösungen überführen können.

Die hydrotropischen Erscheinungen sind so auffallend, daß ich mich immer wieder und wieder gefragt habe, ob dieselben nicht schon allbekannt sind. Seit dem berühmt gewordenen

Versuch von Wistingshausens[1]) aus dem Jahre 1851, welcher zeigte, daß durch eine mit Galle getränkte, tierische Membran Öl in eine gallehaltige Lösung osmosiert, haben die Physiologen und Chemiker auf das besondere Lösungsvermögen der Cholsäuren aufmerksam gemacht[2]). Außer Fetten, Fettsäuren, Seifen, Lipoiden und Farbstoffen löst die sogenannte gereinigte Galle, d. h. ein Gemisch der verschiedenen gallensauren Natriumsalze, wie R. Otto[3]) in einer wenig bekannten Mitteilung vor 22 Jahren angegeben hat, das im Wasser schwer lösliche Phenylhydrazin leicht auf, und ganz neuerdings haben H. Wieland und H. Sorge[4]) in einer wichtigen Arbeit gezeigt, daß diese Lösungskraft hauptsächlich der Desoxycholsäure zukommt, die die bemerkenswerte Fähigkeit besitzt, mit einer ganzen Reihe wasserunlöslicher Stoffe krystallisierende Doppelverbindungen zu liefern. Trotz vielen Suchens habe ich aber sonst in der Literatur nur ganz vereinzelte Angaben gefunden, die mit dem Gebiet der hydrotropischen Erscheinungen in Zusammenhang gebracht werden können. In der erwähnten Arbeit von Otto (l. c.) findet sich die Notiz, daß außer den gallensauren Salzen auch Salze der aromatischen Sulfinsäuren Phenylhydrazin auflösen und daß das Natriumsalicylat gegen Phenylhydrazin ebenso wirkt. Von dieser Fähigkeit der salicylsauren Salze, Basen aufzulösen, ist dann auch eine technische Anwendung gemacht worden, nämlich die Darstellung löslicher Verbindungen von Purinen. In den meisten Fällen handelt es sich um die Kombination von Natrium- oder Bariumsalicylat mit Theobrominnatrium. Gelegentlich ist auch eine freie Xanthinbase, wie Caffein, mit einem Alkalisalicylat oder Benzoat kombiniert worden[5]). Zu der letzterwähnten Form der Doppelverbindung muß bemerkt werden, daß Caffein keineswegs zu den unlöslichen

[1]) v. Wistingshausen: Experimenta quaedam endosmotica de bilis in absorptione adipum neutralium partibus. Dissert. inaug. Dorpat 1851.

[2]) Vgl. O. v. Fürth, Probl. d. physiolog. und patholog. Chem. I, S. 304 und II, S. 356 bis 360; O. Hammarsten, Lehrb. 8. Aufl., S. 413; F. Knoop in Bioch. Handlex. III, S. 312; J. Wohlgemuth in Oppenheimers Handbuch d. Biochemie III, S. 214; Zuntz-Loewy, Physiologie, 2. Aufl., S. 493.

[3]) R. Otto, Ber., **27**, 2131, 1894.

[4]) H. Wieland u. H. Sorge, Zeitschr. für physiol. Chem. **97**, 1, 1916.

[5]) Literatur s. bei S. Fränkel, Arzneimittelsynthese **1912**, 3. Aufl., 722.

Körpern gehört, sondern sich in der Wärme in 2 Teilen Wasser löst. Eine komplexe Verbindung der freien Salicylsäure mit Campher beschreibt Semmler[1]), die allerdings durch Wasser sofort zerlegt wird. Schließlich fand ich noch folgende Angabe von Duyck[2]): „Beim Schütteln einer Natriumsalicylatlösung mit einem Terpen entsteht eine krystallinische Substanz, die beim Lösen in Wasser oder bei längerem Erhitzen auf 100° in ihre Komponenten zerlegt wird." Vereinzelt gleich diesen älteren Angaben steht die jüngst mitgeteilte Beobachtung[3]), daß man Norcampher in oxybenzoesauren Salzen auflösen kann.

Eine Erkennung des allgemeinen Prinzips der Hydrotropie kann jedoch nach den vorliegenden Literaturangaben nicht in Rede stehen, und auch die ungemein große Verbreitung hydrotropisch wirkender Salze dürfte völlig unerwartet sein.

Außer von den erwähnten allgemein physiologischen Gesichtspunkten aus könnten die hydrotropischen Erscheinungen noch nach einigen anderen Richtungen hin ein biologisches Interesse erwecken.

So ist man imstande, mit Hilfe der hydrotropisch wirkenden Salze manche Arzneimittel in wäßrige Lösung überzuführen und in dieser Form äußerlich und innerlich zur Anwendung zu bringen. Die „hydrotropische Löslichkeit" erreicht gelegentlich den hundertfachen Betrag der Löslichkeit in reinem Wasser (s. S. 175). Hier eröffnet sich vielleicht ein neues Anwendungsgebiet, um so mehr, wenn man bedenkt, daß so verhältnismäßig indifferente Substanzen wie Butyrate, Valerianate, Phenylpropionate, ferner Sulfonate und ätherschwefelsaure Salze als hydrotropisches Mittel benutzt werden können; daß die Salze der Benzoesäure, des „physiologischen" Konservierungsmittels, mit starker Hydrotropie ausgestattet sind und daß sie auch nach der Paarung mit Glykokoll zu der physiologisch noch indifferenteren Hippursäure wirksam bleiben, ist schon vorher erwähnt.

Für besondere biologische Zwecke könnte die Tatsache

---

[1]) F. W. Semmler, Die ätherischen Öle 3, 511.

[2]) Chem. Zentralbl. 1898, I, 892. Die Auffindung dieses Zitates ist dadurch besonders erschwert, daß im Generalregister für die Bde. 1897 bis 1901 S. 107 steht „Verbindung von Terpen mit Alkalisilicaten" statt „Alkalisalicylat".

[3]) Fr. Bayer, Ch. C. 1916, I, 352.

Beachtung finden, daß man auch unlösliche Proteine allem Anschein nach ohne wesentliche Denaturierung mit den hydrotropischen Salzen in Wasser auflösen kann; an tierischen Proteinen, wie Casein und Pankreasnucleoproteid, an pflanzlichen Eiweißkörpern, wie Edestin und Hefeprotein[1]) sind solche Versuche durchgeführt. Lösungen bis zu einem Gehalt von 15% Eiweiß lassen sich auf diese Weise herstellen, ohne daß dabei die obere Grenze erreicht wäre. Der Merkwürdigkeit halber sei erwähnt, daß die in den hydrotropischen Salzlösungen gelösten Eiweißkörper mit Substanzen gemischt werden können, die sonst ihre Fällung herbeiführen oder sie überhaupt nicht aufnehmen, wie mit Alkoholen. Völlig klare und hitzebeständige Eiweißlösungen, die z. B. ein der wäßrigen Lösung gleiches Volumen Amylalkohol oder Benzylalkohol enthalten, lassen sich ohne weiteres herstellen. Ebenso verhält sich natürlich der gewöhnliche Äthylalkohol, der unter Umständen[2]) ja schon an sich Proteine zu lösen vermag. Nicht nur die in Wasser unlöslichen Eiweißkörper werden auf diese Weise — ohne Anwendung starker Agentien, wie Alkalien oder Säuren — in hochkonzentrierte und hitzebeständige Lösungen übergeführt, sondern auch die löslichen Eiweißkörper werden in Gegenwart der hydrotropischen Salze unkoagulierbar. Das ist ein Unterschied im Vergleich mit den bekannten Lösungen von Proteinen in gewöhnlichen Neutralsalzen (NaCl, NH_4Cl); denn letztere heben ihre Gerinnbarkeit beim Erwärmen nicht auf, sondern erhöhen zumeist[3]) die Koagulierbarkeit. Lösungen von Hühnereiweiß, Serum oder von dem an Eiweißstoffen so reichen Hefemacerationssaft können nach Zugabe der hydrotropisch wirkenden Salze ohne die geringste Ausflockung beliebig gekocht werden; Mucine gehen schon in der Kälte in Lösung.

Es wird interessant sein, das serologische Verhalten der mit hydrotropischen Salzen gelösten und unter ihrem Schutz erwärmten Proteinlösungen zu verfolgen. Man kann häufig

---

[1]) C. Neuberg, Wochenschr. f. Brauerei **1915**, Nr. 38.

[2]) K. Spiro, Beiträge z. chem. Physiolog. u. Pathol. **4**, 300, 1904.

[3]) Eine Ausnahme machen Kaliumjodid und Kaliumrhodanid, die nach W. Pauli und H. Handovsky (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **11**, 415, 1908) die Hitzekoagulation von Proteinen aufheben können.

beobachten, daß diese zuvor nicht ganz durchsichtigen Lösungen durch Zusatz des hydrotropischen Mittels sich bis zur Wasserhelle klären. Dementsprechend können Bakteriensuspensionen, wie sie u. a. in den zur Schutzimpfung benutzten Cholera- oder Typhusvaccinen vorliegen, gelöst oder wesentlich aufgehellt werden. Das gleiche ist der Fall bei sehr fein zerkleinerten Breien verschiedener Organe, z. B. vom Hirn. Auch zur Erzielung von Plasmolysen, bei denen gleichzeitig eine ergiebige Lösung von Zellbestandteilen gewünscht wird, läßt sich wohl der Hydrotropismus verwerten. Besondere Versuche müssen lehren, ob von diesem Verhalten die Immunochemie und Bakteriologie werden Gebrauch machen können. Da gleich anderen Eiweißlösungen auch der Ascites seine Gerinnbarkeit einbüßt, so ist es denkbar, daß derartig hergestellte klare Flüssigkeiten zur Bereitung von besonderen Nährböden für die Züchtung von Mikroorganismen dienen können; denn außer den Benzoaten und Hippuraten finden sich unter den hydrotropischen Salzen noch andere von beträchtlicher Ungiftigkeit, wie z. B. Harnstoffe, die Benzolsulfonate und Homologen.

Von den hydrotropisch wirksamen Substanzen wurden bisher die Alkalisalze folgender 43 Säuren geprüft; Benzoesäure, Hippursäure, Carbolsäure, m- und p-Nitrobenzoesäure, o-, m- und p-Aminobenzoesäure, o-Jodbenzoesäure, m-Chlorbenzoesäure, p-Brombenzoesäure, o-, m- und p-Oxybenzoesäure, p-Methoxybenzoesäure, m-Toluylsäure, o- und p-Kresotinsäure, 3,5-Dijodsalicylsäure, Phtalsäure, 2,5-Dioxybenzoesäure, 2,4-Dioxybenzoesäure, Benzolsulfinsäure, Benzolsulfosäure, p-Toluolsulfosäure, α- u. β-Naphtoesäure, α- u. β-Oxynaphtoesäure, α- u. β-Naphtalinsulfosäure, Naphtensäure, Abietinsäure, Sylvinsäure, α-Thiophencarbonsäure, Brenzschleimsäure, Picolinsäure, Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, Zimtsäure, Mandelsäure, Isovaleriansäure, Amylschwefelsäure.

Ein Blick auf diese Reihe zeigt, daß sich darunter bekannte Heilstoffe und Desinfektionsmittel finden. Nach den von Paul Ehrlich begründeten Anschauungen über die Wirksamkeit der Arzneistoffe müssen wir uns vorstellen, daß sie lokal sicherlich in hohen Konzentrationen an bestimmten Stellen des Organismus oder in der Zelle eines bakteriellen Erregers auftreten. Insbesondere für die Salicylsäure haben S. Bondi

und M. Jacoby[1]) direkt eine Anhäufung an den Orten pathologischen Geschehens, in den durch Bakterien infizierten Gelenken, konstatiert, und sie tritt reichlich in die von solchen erkrankten Gelenken abgesonderten Exsudate über[2]).

Die Phenole und Naphtole gehören gleichfalls in die Gruppe der hydrotropisch wirkenden Salze, und da sie andererseits zugleich zu den kräftigsten Desinfektionsmitteln zählen, so darf man die Möglichkeit ins Auge fassen, daß namentlich bei lokaler Konzentration[3]) an ihrer Wirksamkeit der hydrotropische Effekt mitbeteiligt ist, etwa durch Lockerung oder Auflösung bestimmter Zellbausteine; vielleicht bahnt ihnen auch nur die Mischbarkeit mit unlöslichen Protoplasmabestandteilen den Weg. Andererseits ist zu beachten, daß nach den früher gemachten Ausführungen im Verdauungskanal der Organismen dauernd hydrotropisch wirkende Substanzen gebildet werden, und auf sie werden immer in den Organismus eingeführte wasserunlösliche Substanzen treffen.

In analytischer Hinsicht ist es von Interesse, daß die hydrotropische Wirksamkeit sich auch auf die Lösung anorganischer Substanzen erstrecken kann. Denn wie vorläufig nur am Benzoat, Salicylat und Isovalerianat untersucht worden ist, besitzen diese Salze die Fähigkeit, Magnesiumcarbonat, Calciumcarbonat sowie phosphorsaure Magnesia aufzulösen bzw. ihr Ausfallen zu verhindern. Sie besitzen ferner ein bemerkenswertes Lösungsvermögen für Kalk- und Magnesiaseifen.

Auch eine so unlösliche Substanz wie die Harnsäure wird von hydrotropischen Salzen wenigstens vorübergehend gelöst. Deshalb muß auch mit dem Umstande gerechnet werden, daß hydrotropische Salze an der Mobilisierung der Purine im Tierkörper beteiligt sind und daß sie ferner bei der Verhütung von Sedimentablagerungen — wie Urat-, Kalk- und Magnesiasteinen — in den Organismen eine Rolle spielen; gehören doch z. B. die Salicylsäure und Benzoesäure zu den wenigen Sub-

[1]) S. Bondi und M. Jacoby, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 514, 1906.

[2]) C. von Noorden, Wiener klin. Wochenschr. 1141, 1909.

[3]) Nebenher sei bemerkt, daß arsanilsaures Kalium Alkaloide, Proteine und gewisse Lipoide zu lösen vermag.

stanzen, die nach Magnus-Levy[1]) und Ulrici[2]) regelmäßig und eindeutig eine erhöhte Harnsäureausscheidung beim Menschen zuwege bringen.

Von anderen Gebieten, die durch die hydrotropischen Vorgänge berührt werden, seien schließlich nur noch folgende erwähnt. Für präparative und analytische Arbeiten ist es von Interesse, daß trübe Eiweißlösungen, wie etwa Sera oder Hefenpreßsäfte, durch die erwähnten Zusätze soweit aufgehellt werden, daß sie leicht polarisiert werden können. Man kann das Drehungsvermögen auch von Substanzen jetzt ermitteln, die sonst nur in Laugen oder Säuren gelöst werden konnten. Für die Technik tier- und pflanzenphysiologischer Experimente ergibt sich die Möglichkeit, ätherische Öle und andere mit Wasser nicht mischbare Flüssigkeiten auf ihr Verhalten im Organismus in neuer Weise zu studieren. Daß die eigentlichen Eiweißkörper ihre Gerinnbarkeit und Proteine wie Gelatine ihr Erstarrungsvermögen einbüßen, mag schließlich gelegentlich eine technische Anwendung finden.

Es erhebt sich nun die Frage, wie dieses umfangreiche Gebiet der hydrotropischen Erscheinungen zu deuten ist. Liegt allen den beschriebenen Vorgängen ein und dasselbe Gesetz zugrunde oder sind ganz verschiedene Einflüsse im Spiele?

Gemeinsam ist allen „hydrotropisch“ befundenen Substanzen der „Salzcharakter“. Sehr verschieden kann aber die Art der Salzbildung sein. Sie kann sich an Carboxylgruppen (— COOM), an Sulfon- ($— SO_3M$), Sulfin- ($— SO_2M$) und Ätherschwefelsäureresten ($— O.SO_3M$) vollziehen oder am Hydroxyl (— OM), wie bei der Carbolsäure, vor sich gehen [3]). Die salzbildenden Stoffe können offene Ketten oder ringförmigen Bau haben. Solange die salzbildende Gruppe unverändert bleibt, können, ohne daß die Hydrotropie erlischt, fast beliebige Substituenten (Halogene, Amino-, Nitro-, Hydroxylreste) eingeführt werden.

Somit ist die Hydrotropie eine weitverbreitete Eigenschaft der Salze. Sie ist aber keine allgemeine. Auch eine starke Wasser-

---

[1]) Vgl. Ad. Magnus-Levy, Zeitschr. f. klin. Med. **36**, Heft 5 u. 6, 1898; ferner

[2]) F. H. Ulrici, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **46**, 321, 1901.

[3]) Durch saure Methylengruppen ($— CH_2 —$) und saure Imidgruppen (— NH —) usw. vermittelte Salzbildungen sind noch zu prüfen.

löslichkeit der Salze ist nicht bestimmend; denn die spielend löslichen Sulfocyanate lösen zwar leicht Eiweißkörper und Alkaloide, aber keine öligen Körper, wie höhere Alkohole, Ketone u. dgl.

Bei den hydrotropischen Erscheinungen wird man in erster Linie an die Entstehung von löslichen Doppelverbindungen und Komplexen denken müssen. In der Tat ist es möglich gewesen, in mehreren Fällen krystallinische Doppelverbindungen aus der wäßrigen Lösung von hydrotropischem Salz und gelöstem Stoff abzuscheiden. Diese Kombinationsverbindungen werden Anhaltspunkte für die Beurteilung der Struktur bieten, die man den neuen Systemen zuzuschreiben hat. Die Fähigkeit, in Komplexe einzutreten, ist aber allein auch nicht maßgebend für das Zustandekommen der Hydrotropie. Denn ein so ausgesprochen zur Komplexbildung neigendes Anion wie das Rhodan löst wohl Alkaloide und amphotere Eiweißkörper, aber keine n-freien öligen Verbindungen. Den Gebilden, die in den hydrotropischen Lösungen der Basen[1]) und Proteine vorliegen, wird man wohl eine Zusammensetzung im Sinne der Wernerschen Formulierungen zuschreiben dürfen, den Eiweißsolutionen, vielleicht auch den Bau des sogenannten Salzeiweißes im Sinne von W. Pauli[2]), das dieser Forscher und seine Mitarbeiter folgendermaßen veranschaulichen:

$$R\begin{matrix}\diagup COOH \\ \diagdown NH_2.MeS\end{matrix} \quad \text{bzw.} \quad R\begin{matrix}\diagup COOM \\ \diagdown NH_2.HS.\end{matrix}$$

In anderen Fällen wird es auf Grund physikalisch-chemischer Bestimmungen möglich sein, über die hydrotropischen Lösungszustände etwas zu erfahren. Änderungen der Viscosität, der Oberflächenspannung, der Leitfähigkeit usw. und besonders eine Prüfung des optischen Verhaltens werden hier Aufschluß geben können. In einigen seltenen Fällen, wie bei der Lösung des Önanthols in α-Oxynaphtoat oder des Zimtaldehyds in Amylsulfat, Dijodsalicylat und Naphtenat, ferner des Chinolins und Phenyl-

[1]) Nicht unerwähnt bleibe, daß auch Harnstoff und Thioharnstoff nebst ihren Abkömmlingen in manchen Fällen hydrotropisch wirken. In wäßrigen Lösungen von Carbamid und Thiocarbamid lösen sich z. B. Alkaloide und Proteine, in Thioharnstofflösungen auch Zyklohexanon, Zyklohexanol, Anilin, Phenylhydrazin, Zimtaldehyd usw. Die Löslichkeit von Eiweißkörpern in Harnstoff hat schon K. Spiro (Zeitschr. f. physiolog. Chem. 30, 182, 1900) beobachtet.

[2]) W. Pauli und O. Falek, diese Zeitschr. 47, 270. 1912.

äthylalkohols in Sylvinat ist der Zustand der homogenen Lösung an bestimmte, teilweise eng umschriebene Temperaturen geknüpft, indem oberhalb und unterhalb gewisser Wärmegrenzen eigenartige opake Trübungen auftreten. Da sowohl hydrotropische Substanzen als ihre Substrate optisch aktiv sein können, so wird das Studium des Drehungsvermögens über den etwaigen Zusammentritt zu Komplexverbindungen Aufschlüsse geben können. Nicht unerwähnt bleibe schließlich, daß vor Eintritt der glatten Auflösung öfter die Bildung eigenartig dichroitisch gefärbter, optisch nicht homogener Phasen zu beobachten ist, daß die Lösung manchmal nicht sofort, sondern erst nach einiger Zeit vollständig wird und daß der gleichmäßig-klaren Auflösung bisweilen ein Zustand vorausgeht, bei dem der zu lösende wasserunlösliche Stoff in dicken Schlieren oder stark lichtbrechenden Tropfen nach Art der flüssigen Krystalle in dem Medium herumschwimmt. Unbekannte Affinitätskräfte und rein physikalische Einflüsse dürften bei den hydrotropischen Erscheinungen vereint sein.

In dieser ersten Mitteilung soll auszugsweise das Tatsachenmaterial mitgeteilt werden, das durch die Untersuchung hydrotropischer Salze aus der aromatischen Reihe und aus zyklischen Gruppen gewonnen worden ist. Die Mitteilungen von Erfahrungen mit hydrotropischen Substanzen aus der aliphatischen Reihe, zu denen, wie gesagt, u. a. die Substanzen der Essigsäuregruppe und ihrer Halogensubstitutionsprodukte zählen, sowie das vertiefte Studium der erwähnten Erscheinungen in den angedeuteten Richtungen können erst später erfolgen.

Versuche.

Als gemeinsame Vorbemerkungen zu den nachstehenden experimentellen Daten mögen folgende Angaben dienen.

Wie schon erwähnt, sind die Prüfungen auf Hydrotropie zu ganz verschiedenen Zeiten vorgenommen. Deshalb ist die Konzentration der verwendeten hydrotropischen Salze nicht einheitlich, etwa in Normalitäten angegeben. Naturgemäß sind auch die Benzoate, Hippurate und Phenolate, an denen die Erscheinung zuerst beobachtet wurde, nebst einigen Verwandten am weitgehendsten untersucht worden, wenigstens hinsichtlich der Zahl der hydrotropisch löslichen Verbindungen. Diese er-

strecken sich auf eine recht große Menge von Vertretern fast aller Körperklassen. Später, als das Material beträchtlich wuchs, mußte eine Beschränkung erfolgen. Sie betraf die Anzahl der hydrotropisch auflösbaren Stoffe, die dann einheitlich auf 10 bemessen wurde, und zwar auf: Amylalkohol, Essigester, Diäthylketon, Zimtaldehyd, Zyklohexanon, Anilin, Chinolin, Phenyläthylalkohol, Brucin und Casein. Wie ersichtlich ist, finden sich in dieser Reihe verschiedene Alkohole und Ketone, ferner ein Aldehyd, ein Ester sowie eine primäre und eine tertiäre Base: letztere vermitteln den Übergang zu den komplizierter gebauten Alkaloiden und Eiweißkörpern.

Vorweg sei weiter folgendes bemerkt: Zur Verwendung gelangten vielfach sowohl bei den hydrotropischen Substanzen als bei den Substraten die käuflichen Materialien bzw. aus ihnen bereitete Derivate. Aus diesem Grunde können die zahlenmäßigen Belege für die Löslichkeit mit einer geringen, praktisch jedoch völlig belanglosen Unsicherheit behaftet sein. Die absoluten Zahlen ändern sich natürlich mit den relativen Konzentrationsverhältnissen. Es ist nicht angestrebt, die maximale Löslichkeit zu ermitteln, sondern das Lösungsvermögen bei den einmal gewählten Konzentrationen. Im allgemeinen wächst die hydrotropische Kraft mit der Konzentration des hydrotropischen Salzes; zweifelsohne wird es möglich sein, in den Fällen, wo z. B. die Schwerlöslichkeit eines verwendeten Natriumsalzes eine verhältnismäßig schwache Hydrotropie bedingt, durch Bindung derselben Säure an ein anderes Kation, wie an Kalium, Lithium, Ammonium oder auch an Erdalkalien oder an organische Basen in experimenteller Hinsicht noch günstigere Bedingungen ausfindig zu machen.

I.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von benzoesaurem Natrium (200 g Natriumbenzoat gelöst mit Wasser zu 500 ccm).

1a. 2,0 ccm reiner Amylalkohol werden glatt gelöst von 1,0 ccm Natriumbenzoatlösung. Diese Mischung verträgt Zusatz von 0,5 ccm H_2O; 1,0 ccm H_2O oder mehr scheiden Amylalkohol ölig ab[1]).

[1]). Während eine Zugabe von Wasser die hydrotropischen Systeme stören kann, erhält man stets gleichmäßig klare Mischungen, wenn die Verdünnung mit der wäßrigen Lösung des hydrotropischen Salzes geschieht

1b. 2,0 ccm Amylalkohol werden bereits gelöst von 0,5 ccm Natriumbenzoatlösung; 0,5 ccm H_2O trüben, und dann stellen 0,5 ccm Natriumbenzoat wieder eine klare Lösung her.

2. 1,0 ccm sec. Octylalkohol wird gelöst von 1,2 ccm Benzoatlösung zu einer opalisierenden Flüssigkeit. 0,2 ccm H_2O trüben dieselbe.

3. 1,0 ccm frisch destillierter Essigester wird von 4,0 ccm Natriumbenzoat beim Schütteln gelöst. 2,0 ccm H_2O trüben gelinde, 5,0 ccm H_2O lösen jedoch klar auf. (Kontrolle: 1,0 ccm Essigester wird von 9,0 ccm H_2O nicht aufgelöst.)

4. 1,0 ccm Paraldehyd wird von 7,0 ccm Benzoatlösung nahezu gelöst. 2,0 ccm H_2O erzeugen dann eine spiegelklare Lösung, die mit mehr Wasser beliebig verdünnt werden kann. (Kontrolle: 1,0 ccm Paraldehyd wird beim Schütteln von 9,0 ccm H_2O nicht völlig aufgenommen, sondern schwimmt als unlösliche Ölschicht oben auf.)

5. 1,0 ccm Önanthol löst sich in 10,0 ccm Benzoat zu einer grünlich-blau irisierenden Flüssigkeit; 1,0 ccm H_2O bewirkt dicke Ölabscheidung.

6. 2,0 ccm Citronellol werden gelöst von 2,0 ccm Benzoat. 0,2 ccm H_2O trüben.

7. 1,0 ccm Geraniol wird gelöst von 4,0 ccm Benzoatlösung. 0,2 ccm H_2O trüben, mehr H_2O scheidet Öl ab.

8. 0,5 ccm Benzaldehyd lösen sich in 5,0 ccm Natriumbenzoat bei gelinder Wärme. 5,0 ccm H_2O scheiden beim Erwärmen öligen Benzaldehyd ab.

9. 0,5 ccm Zimtaldehyd werden gelöst von 7,0 ccm Benzoat. H_2O scheidet sofort — in der Kälte wie in der Wärme — öligen Aldehyd ab.

10. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich in 4,0 ccm Natriumbenzoat. H_2O kann beliebig zu dieser Mischung zugesetzt werden.

11. 0,5 ccm Acetophenon lösen sich bei gelindem Erwärmen in 7,0 ccm Benzoatlösung. 1,0 ccm H_2O trübt.

12a. 2,0 ccm Benzylalkohol lösen sich schon in 0,5 ccm Benzoatlösung. 0,5 ccm H_2O trübt; 0,5 ccm Benzoatlösung stellen wieder klare Lösung her, die dann 0,5 ccm H_2O verträgt.

12b. 2,0 ccm **Benzylalkohol** mischen sich klar mit 3,0 ccm Benzoat. Die Lösung verträgt 4,0 ccm H_2O. 5,0 ccm H_2O trüben und 0,5 ccm Benzoat löst wieder klar auf.

13. 1,0 ccm **Phenyläthylalkohol** gibt eine klare Lösung mit 0,5 ccm Benzoatlösung. 0,2 ccm H_2O werden vertragen, 0,5 ccm H_2O trüben.

14. 2,0 ccm **Zimtalkohol** (verflüssigt) lösen sich klar in 1,0 ccm Benzoatlösung. 0,5 ccm H_2O bewirkt Trübung, Zusatz von 1,0 ccm Benzoat wieder klare Lösung.

15. 2,0 ccm **Eugenol** werden gelöst durch 2,0 ccm Benzoat. 0,5 ccm H_2O trüben, mehr Wasser fällt Öl.

16. 1,0 ccm **Zyklohexanol** (Kahlbaum) löst sich spielend in 1,0 ccm Benzoat. Die Mischung verträgt 1,0 ccm H_2O.

17. 1,0 ccm **Zyklohexanon** (Poulenc) löst sich glatt in 1,0 ccm Benzoat. 0,5 ccm H_2O werden vertragen, 0,7 ccm H_2O trüben, 2,0 ccm H_2O heben eine dicke Ölschicht ab.

18. 0,1 ccm **o-Nitrotoluol** wird von 4,0 ccm Benzoat fast gelöst. H_2O trübt stark milchig und Benzoatlösung löst wieder auf.

19. 1,0 ccm **Anilin** löst sich bei 40° nach öfterem Umschütteln klar in 3,0 ccm Benzoat. 0,2 ccm H_2O trüben, mehr H_2O scheidet eine dicke Anilinschicht ab.

20. 1,0 ccm **Phenylhydrazin** ist klar löslich in 1,0 ccm Benzoatlösung. 7,0 ccm H_2O werden vertragen, 8,0 ccm H_2O bewirken leichte Trübung.

21a. 2,0 ccm **Chinolin** sind klar löslich in 1,0 ccm Benzoat. 0,8 H_2O werden vertragen, 1,0 ccm H_2O ölige Trübung.

21b. 1,0 ccm **Chinolin**, gemischt mit 2,0 ccm Benzoat, verträgt ohne Trübung den Zusatz von 2,5 ccm H_2O. 3,0 ccm H_2O scheiden Öltröpfchen ab. Beim Zusammenbringen von Chinolin und Benzoatlösung treten vorübergehend gelatinöse Flocken auf, die sich schnell wieder lösen.

22a. 1,0 ccm **Isochinolin** klar löslich in 1,0 ccm Benzoat. 0,4 ccm H_2O werden vertragen, 0,6 ccm H_2O bewirken Trübung.

22b. 1,0 ccm **Isochinolin** gibt mit 3,0 ccm Benzoat eine klare Lösung, die den Zusatz von NaOH verträgt.

23. 0,1 g geschmolzenes oder feingepulvertes Indol löst sich in 10,0 ccm Benzoat. 1,0 ccm H_2O wird vertragen, mehr H_2O scheidet Indolkrystalle ab.

24. 0,02 g Harnsäure lösen sich beim Schütteln klar in 6,0 ccm Benzoat. Die Lösung bleibt in der Kälte etwa 10 Minuten klar und ist mit H_2O beliebig mischbar. Hinreichende Mengen absoluten Alkohols fällen aus der klaren Harnsäure-Benzoatmischung Harnsäure bzw. Natriumurat in feinen Flocken. Beim Stehen der klaren Lösung von Harnsäure in Benzoat erfolgt Trübung. Dieselbe tritt beim Erhitzen fast augenblicklich ein. (Kontrolle: 0,02 g Harnsäure sind in 0,6 ccm H_2O ganz unlöslich[1].)

25a. 5,0 ccm 1%ige Chininchlorhydratlösung geben bei Zusatz von 8,0 ccm Benzoatlösung nach vorübergehender Trübung eine spiegelklare Lösung. 2,0 ccm $^n/_{10}$-Lauge lassen das Gemisch völlig klar, ebenso mehr Lauge; auch H_2O kann beliebig zugesetzt werden.

25b. 5,0 ccm 1%ige Chininchlorhydratlösung, gemischt mit 8,0 ccm H_2O, geben mit 2,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH eine dicke Fällung, die sich in 10,0 ccm Benzoat klar auflöst.

26a. 5,0 ccm 1%ige Brucinsulfatlösung bleiben klar auf Zugabe von 1,0 ccm Benzoatlösung und vertragen glatt den Zusatz von 1,0 ccm 15%iger NaOH.

26b. 5,0 ccm 1%ige Brucinsulfatlösung geben nach Mischung mit 1,0 ccm H_2O und auf Zugabe von 1,0 ccm 15%iger NaOH eine Fällung von Brucin. Die Endlösung 26b wird auf Zugabe der Endlösung 26a wieder klar.

27. 0,5 g Casein (Hammarsten) lösen sich vollkommen schon in der Kälte in 5,0 ccm Benzoat. Diese Lösung ist klar mischbar mit 5,0 ccm absolutem Alkohol oder 5,0 ccm Amylalkohol. Sie ist mit beliebig H_2O mischbar und wird durch Sieden weder getrübt noch gefällt. Erst durch einen großen Überschuß von Alkohol wird Casein aus der Lösung niedergeschlagen.

---

[1]) Die Löslichkeit der Harnsäure ist bei 18° nach His und Paul 1 : 39500, bei 37° nach Gudzent 1 : 15500.

28. 0,2 g Pankreasnucleoproteid lösen sich in 3,0 ccm Benzoat. Die Lösung ist in der Hitze nicht koagulierbar, kann mit H_2O beliebig gemischt werden und wird erst durch sehr viel Alkohol gefällt.

29. 1,0 ccm unverdünnte Milch wird durch die Zugabe von 3,0 ccm Benzoatlösung stark aufgehellt und beim Erwärmen fast völlig geklärt. (Kontrolle: 1,0 ccm Milch und 3,0 ccm H_2O bleiben auch in der Siedehitze trübe.)

30. 5 ccm frisch bereiteter, leicht getrübter Hefemacerationssaft werden bei Zugabe von 5,0 ccm Benzoatlösung spiegelklar. Die Mischung wird auch in der Siedehitze nicht trübe, während bekanntlich Macerationssaft, der mit der gleichen Menge H_2O verdünnt ist, beim Erwärmen völlig gerinnt.

31. Schließlich ist qualitativ auch noch die Lösung folgender Substanzen durch die Benzoatlösung festgestellt worden: Äthylenbromid, Äthyljodid, Jodthion, Benzoylchlorid, Benzonitril, Nitrobenzol, Azobenzol, Jodosobenzol, Toluol, Cholesterin, Euxanthon, Pulegon, Thujon Typhus-Impfstoff wird aufgehellt.

II.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von Natriumphenolat. (47 g krystallisiertes Phenol und 20 g NaOH + Wasser zum Volumen von 110 ccm.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich glatt in 0,5 ccm Phenolatlösung. Nimmt man 1,0 ccm Phenolatlösung, so wird 1,0 ccm H_2O vertragen, während 1,5 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm sec. Octylalkohol löst sich in 1,0 ccm Phenolatlösung. 1,0 ccm H_2O trübt.

3. 1,0 ccm Essigester löst sich schon in 0,5 ccm Phenolat. Nimmt man 1,0 ccm Phenolat, so bewirken 0,5 ccm H_2O den Beginn einer Trübung. 1,0 ccm Phenolat führen dann wieder Klärung herbei, eine Zugabe von mehr H_2O Abscheidung von Essigester als Schicht.

4. 1,0 ccm Paraldehyd löst sich in 6,0 ccm Phenolatlösung. Das Gemisch bleibt auf Zugabe von beliebigen Wassermengen klar.

5. 1,0 ccm Önanthol löst sich im ersten Augenblick klar in 1,0 ccm Phenolatlösung; dann erfolgt Trübung, die durch eine weitere Zugabe der gleichen Menge Phenolat nicht beseitigt wird. Es entsteht vielmehr eine dichroitische Flüssigkeit. (Die Lösung geht unter Erwärmung vor sich, so daß hier mit dem Eintritt einer chemischen Umwandlung gerechnet werden muß.)

6. 1,0 ccm Citronellol löst sich in 2,0 ccm Phenolatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben, mehr H_2O scheidet Öltropfen ab.

7. 1,0 ccm Geraniol löst sich glatt in 2,0 ccm Phenolatlösung. 0,5 ccm H_2O werden vertragen, 1,0 ccm H_2O erzeugt Trübung, mehr H_2O scheidet Öltropfen ab.

8. 1,0 ccm Benzaldehyd löst sich bereits in 0,5 ccm Phenolat. Bei 1,0 ccm Phenolat entsteht eine klare gelb-grüne Flüssigkeit, 0,5 ccm H_2O trüben, und mehr H_2O scheidet öligen Benzaldehyd ab. Die Phenylhydrazinprobe zeigt, daß der Benzaldehyd unverändert ist.

9. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich in 0,5 ccm Phenolat. Nimmt man 1,0 ccm Phenolat, so werden 0,2 ccm H_2O vertragen, während 0,5 ccm H_2O trüben. Mehr H_2O scheidet Tropfen von Zimtaldehyd ab. Beim Zusammenbringen von 1 Teil Zimtaldehyd mit 2 bis 3 Teilen der Phenolatlösung treten zerfließende undeutliche Krystalle auf.

10. 1,0 ccm Diäthylketon ist löslich in 2,0 ccm Phenolat. 1,0 ccm H_2O scheidet unverändertes Keton ab.

11. 1,0 ccm Methylpropylketon löst sich in 1,0 ccm Phenolatlösung. 1,0 ccm H_2O wird vertragen, mehr H_2O ererzeugt Trübung.

12. 0,5 ccm Acetophenon lösen sich in 0,5 ccm Phenolat bei kurzem Schütteln. 0,5 ccm H_2O trüben, mehr H_2O fällt.

13. 0,2 g Cethylalkohol (geschmolzen) lösen sich in 4,0 ccm Phenolatlösung bei gelindem Erwärmen. H_2O fällt.

14. 1,0 ccm Benzylalkohol löst sich in 1,0 ccm Phenolatlösung. 2,0 ccm H_2O können zugesetzt werden ohne Trübung, 2,5 ccm H_2O bewirken die Abscheidung von Öltropfen.

15. 2,0 ccm Phenyläthylalkohol lösen sich glatt in 1,0 ccm Phenolat. Nimmt man 2,0 ccm Phenolat, so werden 2,5 ccm H_2O vertragen, während 3,0 ccm H_2O trüben und mehr H_2O Öl abscheidet.

16. 1,0 ccm Zimtalkohol (verflüssigt) löst sich glatt in 1,0 ccm Phenolatlösung. 1,0 ccm H_2O lassen das Gemisch noch gerade klar, während 2,0 ccm H_2O trüben.

17. 1,0 ccm Eugenol mischt sich glatt mit 1,0 ccm Phenolatlösung. Bei Zugabe von 1,0 ccm H_2O beginnende Trübung.

18. 1,0 ccm Zyklohexanol (Kahlbaum) erstarrt bei Zugabe von 1,0 ccm Phenolat zu einem Krystallbrei, der sich beim Erwärmen klar löst und beim Abkühlen wieder ausfällt. Setzt man 1,0 ccm H_2O hinzu, so entsteht beim Erwärmen ebenfalls klare Lösung, beim Abkühlen erfolgt aber keine Krystallisation mehr. Weitere 0,5 ccm H_2O werden vertragen, während nochmalige Zugabe von 1,0 ccm H_2O Trübung bewirkt.

Dementsprechend erhält man in der Kälte eine klare Lösung bei Mischung von: 1,0 ccm Phenolat mit 2,0 ccm H_2O und 1,0 ccm Zyklohexanol. Aus diesem Gemisch scheidet Wasser öliges Zyklohexanol ab.

Krystalle erhält man auch, wenn man in umgekehrter Reihenfolge Zyklohexanol in die Phenolatlösung einlaufen läßt. Die Krystalle sind in Alkohol löslich.

19. 1,0 ccm Zyklohexanon (Poulenc) löst sich klar in 0,5 ccm Phenolat. Setzt man noch 1,0 ccm Phenolat hinzu, so beginnt eine Krystallabscheidung; Zugabe von 1,0 ccm Phenolat vermehrt die Krystallisation, die beim Abkühlen bis zum vollkommenen Erstarren fortschreitet. 1,0 ccm H_2O löst die Krystallmasse nicht, wohl aber 2,0 ccm H_2O. Man kann noch weitere 2,0 ccm H_2O hinzusetzen, ohne die Homogenität der Mischung zu stören. Erst 2,5 ccm H_2O bewirken Trübung.

20. 1,0 ccm Carvacrol löst sich in 1,0 ccm Phenolat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

21. 1,0 ccm Citronellal wird gelöst von 3,0 ccm Phenolatlösung. 1,0 ccm H_2O trübt bereits.

22. 2,0 ccm Citral glatt gelöst von 2,5 ccm Phenolat. 0,2 ccm H_2O vertragen, 0,5 ccm H_2O Trübung und Ölabscheidung. 2,0 ccm Phenolat stellen wieder klare Lösung her.

23. 1,0 ccm Pulegon löst sich in 3,0 ccm Phenolatlösung. 1,0 ccm H_2O trübt.

24. 1,0 ccm Thujon löst sich in 4,0 ccm Phenolatlösung unter Verfärbung. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

25. 0,5 g Menthol (verflüssigt) lösen sich in 4,0 ccm Phenolatlösung zu einer blau opalisierenden Flüssigkeit. 7,0 ccm Phenolat löst völlig klar und 1,0 ccm H_2O erzeugt in diesem Gemisch ein goldrotes Irisieren.

26. 0,5 ccm Nitrobenzol lösen sich in 10,0 ccm Phenolatlösung zu einer gelbbraunen Flüssigkeit. Dieselbe verträgt 1,0 ccm H_2O, während mehr H_2O milchig trübt.

27. 0,1 ccm Nitrotoluol löst sich gelbbraun in 4,0 ccm Phenolatlösung. 0,15 ccm H_2O werden vertragen.

28. 1,0 ccm Anilin wird glatt gelöst von 2,0 ccm Phenolat. 0,5 ccm H_2O werden vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

29. 1,0 ccm Phenylhydrazin ist klar löslich in 1,0 ccm Phenolatlösung. 8,0 ccm H_2O werden vertragen, während 9,0 ccm H_2O Trübung bewirken.

30. 0,5 ccm Chinolin werden klar gelöst von 1,0 ccm Phenolat. Die Mischung verträgt 1,0 ccm H_2O, während sie von 1,5 ccm H_2O getrübt wird.

31. 0,5 g Chininbase lösen sich bei gelindem Erwärmen in 2,0 ccm Phenolatlösung. Das Gemisch bleibt beim Abkühlen klar und verträgt den Zusatz von 0,5 ccm 15%iger NaOH. 2,0 ccm H_2O bewirken eine dicke Krystallabscheidung.

32. 0,1 g Äthylhydrocuprein (Optochin Morgenroth) wird klar gelöst von 1,0 ccm angewärmten Phenolats. Das Gemisch bleibt auch in der Kälte klar und verträgt den Zusatz von 0,1 ccm 15%ige NaOH; H_2O fällt das Alkaloid aus.

Qualitativ wurde ein Lösungsvermögen beim Phenolat festgestellt für: Toluol, Indol, Azobenzol, Borneol, Campher, Linalool, Jodosobenzol, benzoesaures Äthyl, Benzoesäurebenzylester, Olivenöl, Methylanilin, Chinidin sowie für alkaliunlösliches Nigrosin.

III.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von hippursaurem Natrium. (50%ige Lösung.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich glatt in 2,0 ccm der Lösung von hippursaurem Natrium. 0,5 ccm H_2O trüben unter Erzeugung einer goldig-blau irisierenden Flüssigkeit. Mehr H_2O scheidet eine Ölschicht ab.

2. 0,5 ccm Essigester lösen sich beim Umschütteln in 5,0 ccm Hippuratlösung. H_2O beliebig vertragen.

3. 0,5 ccm Paraldehyd lösen sich zu einer schwach irisierenden Flüssigkeit in einem Gemisch von 2,0 ccm Hippurat und 1,0 ccm H_2O. Zusatz von 1,0 ccm H_2O scheidet Öl ab.

4. 0,5 ccm Benzaldehyd lösen sich in der Wärme ganz klar in 5,0 ccm Hippurat. 2,5 ccm heißes H_2O bewirken Ölabscheidung.

5. 0,5 ccm Diäthylketon löslich in 6,0 ccm Hippurat. H_2O beliebig vertragen.

6. 1,0 ccm Benzylalkohol spielend löslich in 1,0 ccm Hippurat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

7. 1,0 ccm Zimtalkohol leicht löslich in 1,0 Hippurat. 1,0 ccm H_2O trübt.

8. 1,0 ccm Eugenol löst sich schon in 0,5 ccm Hippurat. Nimmt man 1,0 ccm Hippurat, so führt Zugabe von 1,0 ccm H_2O Trübung herbei.

9. 1,0 ccm Phenyäthylalkohol leicht löslich in 0,5 ccm Hippurat. 0,5 ccm H_2O Ölabscheidung.

10. 1,0 ccm Zyklohexanol leicht löslich in 1,0 ccm Hippurat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

11. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 4,0 ccm Hippurat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O Trübung.

12. 0,1 g Euxanthon löst sich in 9,0 ccm Hippurat beim Erwärmen. Die Lösung bleibt beim Abkühlen klar. 10,0 ccm H_2O trüben.

13. 0,5 ccm Benzonitril lösen sich in 10,0 ccm Hippurat fast klar. 1,0 ccm H_2O bewirkt starke Trübung.

14. 0,1 ccm Nitrobenzol nahezu vollständig löslich in 5,0 ccm Hippurat. Wasserzugabe bewirkt starke milchige Trübung.

15. 0,5 ccm Anilin lösen sich beim Umschütteln in 4,0 ccm Hippurat. 2,0 ccm H_2O vertragen, 2,5 ccm H_2O Trübung.

16. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 1,0 ccm Hippurat. 0,5 ccm H_2O trüben.

17. 0,1 g Indol löslich in 3,0 ccm Hippurat bei 40°. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung; mehr Wasser Ausscheidung eines Breies von Indolkrystallen.

18. 1,0 ccm Phenyhydrazin löslich in 1,0 ccm Hippurat. H_2O beliebig vertragen.

19. 2,0 ccm 1%iges HCl-Chinin lösen sich unter vorübergehender Trübung klar in 2,0 ccm Hippurat. Die Mischung bleibt klar auf Zugabe von 1,0 ccm 15%iger NaOH.

20a. 0,1 g Optochinbase löst sich beim Erwärmen klar und bleiben beim Abkühlen gelöst in 6,0 ccm Hippurat. 2 ccm H_2O trüben, 3,0 ccm Hippurat lösen wieder alles klar.

20b. 0,1 g Optochinbase, die in 6,0 ccm Hippurat klar gelöst ist, verträgt beliebigen Zusatz von Hippurat, ohne daß sich Alkaloid ausscheidet.

21. 2,0 ccm 3%iges Brucinchlorhydrat gemischt mit 2,0 ccm Hippurat, vertragen den Zusatz von 1,0 ccm 15%iger NaOH, ohne daß eine Trübung auftritt.

22. 0,5 g Casein lösen sich klar in 4,0 ccm Hippurat. Die Mischung verträgt den Zusatz von 4,0 ccm Amylalkohol.

Durch qualitative Proben wurde festgestellt, daß sich deutlich folgende Substanzen in der Lösung von hippursaurem Natrium lösen: Toluol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Isovaleraldehyd, Citronellol, sec. Octylalkohol, Äthyljodid und Jodthion.

Um Anhaltspunkte für die Verbreitung der somit beim Benzoat, Phenolat und Hippurat erwiesenen Hydrotropie zu gewinnen, wurde eine Reihe anderer Benzolabkömmlinge in der gleichen Richtung untersucht und zwar die Alkalisalze von:

m- und p-Nitrobenzoesäure, o-, m- und p-Aminobenzoe-

säure, o-Jodbenzoesäure, m-Chlorbenzoesäure, p-Brombenzoesäure, o-, m- und p-Oxybenzoesäure, p-Methoxybenzoesäure (Anissäure), m-Tolylsäure, o- und p-Kresotinsäure, 3,5-Dijodsalicylsäure, Phtalsäure, Gentisinsäure, β-Resorcylsäure, ferner Benzolsulfinsäure, Benzolsulfosäure und p-Toluolsulfosäure.

IV.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von m-nitrobenzoesaurem Kalium. (10,25 g Säure genau neutralisiert mit KOH und aufgefüllt auf 40 ccm; da die Lösung bei Zimmertemperatur krystallisiert, wurde sie 40° warm angewandt.)

1. 0,5 ccm Amylalkohol lösen sich in 2,0 ccm m-Nitrobenzoatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 0,5 ccm Essigester lösen sich in 2,0 ccm m-Nitrobenzoat. H_2O beliebig vertragen.

3. Diäthylketon schwer löslich.

4. Zimtaldehyd wenig löslich.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon klar löslich in 1,0 ccm m-Nitrobenzoat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

6. 0,5 ccm Anilin klar löslich in 5,0 ccm m-Nitrobenzoat. 0,5 ccm H_2O trüben.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 1,0 ccm m-Nitrobenzoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O Opalescenz, 4,0 ccm H_2O Ölabscheidung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol klar löslich in 1,0 ccm m-Nitrobenzoat. 1,0 ccm H_2O ölige Trübung.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung gibt einen Niederschlag mit 2,0 ccm m-Nitrobenzoat. Diese Fällung löst sich klar in der Kälte auf in 1,0 ccm 15%iger NaOH. Nach 30 Minuten beginnt in dem Gemisch Krystallisation. Für eine Zeitlang befindet sich also die Brucinbase in mit Alkali übersättigtem m-Nitrobenzoat in Lösung.

10. 0,25 g Casein lösen sich in der Wärme in 2,0 ccm m-Nitrobenzoat.

V.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von p-nitrobenzoesaurem Kalium. (10 g Säure mit KOH neutralisiert in 50 ccm H_2O. Untersucht als übersättigte, 35° warme Lösung.)

1. 0,5 ccm Essigester lösen sich in 4,0 ccm p-Nitrobenzoatlösung. H_2O beliebig vertragen.

2. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 1,0 ccm p-Nitrobenzoat. 1,0 ccm H_2O trübt.

3. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 2,0 ccm m-Nitrobenzoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O Trübung.

4a. 1,0 ccm 3%iges HCl-Brucin gibt mit 2,0 ccm p-Nitrobenzoat eine Fällung, die sich klar wieder auflöst in 1,0 ccm 15%iger NaOH.

4b. Dementsprechend erhält man sofort eine klare Lösung, wenn man 2,0 ccm p-Nitrobenzoat mit 1,0 ccm 15%iger NaOH mischt und dann mit 1,0 ccm der 3%igen Brucinchlorhydratlösung versetzt. Nach 15—20 Minuten beginnt hier eine Krystallisation.

5. 0,25 g Casein lösen sich in der Wärme in 2,0 ccm p-Nitrobenzoat.

VI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von o-aminobenzoesaurem Kalium. (68,5 g o-Aminobenzoesäure neutralisiert mit 100 ccm 5 n-KOH und aufgefüllt zu 200 ccm.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löslich in 1,5 ccm o-Aminobenzoatlösung. 0,5 ccm H_2O Trübung.

2. 1,0 ccm Essigester löslich in 6,0 ccm o-Aminobenzoat. H_2O beliebig vertragen, aus der wäßrigen Lösung kann Essigester abdestilliert werden, ein Beweis dafür, daß die Auflösung nicht etwa durch Verseifung erfolgt.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löslich in 10,0 ccm o-Aminobenzoat. H_2O beliebig vertragen.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich in 20 ccm o-Aminobenzoat. 2,0 ccm H_2O werden vertragen, mehr Wasser bewirkt milchige Trübung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 1,0 ccm o-Aminobenzoat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt unter Schichtenbildung.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich in 5,0 ccm o-Aminobenzoat. 0,5 ccm H_2O bewirkt bereits Trübung unter Ölabscheidung.

7. 1,0 ccm Chinolin löslich in 1,0 ccm o-Aminobenzoat. 0,4 ccm H_2O vertragen, 0,5 ccm H_2O Trübung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löslich in 1,0 ccm o-Aminobenzoat. 0,5 H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Ölabscheidung.

9. 1,0 ccm 3%ige Brucinchlorhydratlösung bleibt klar auf Zugabe von 1,0 ccm o-Aminobenzoat und 1,0 ccm 15%ige NaOH.

10. Der Versuch mit Casein unterblieb, weil eine Lösung des Eiweißkörpers bei der starken hydrolytischen Spaltung des o-Aminobenzoats auf Alkaliwirkung beruhen könnte.

VII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von m-aminobenzoesaurem Kalium. (Konzentration wie beim o-Aminobenzoat.)

Die untersuchten Verbindungen von 1—8 sind sämtlich schwer oder gar nicht löslich, dagegen erhält man eine klare Brucinlösung auf folgende Weise:

1,0 ccm 3%ige Brucinchlorhydratlösung bleibt klar auf Zusatz von 2,0 ccm m-Aminobenzoatlösung. 1,0 ccm 15%ige NaOH fällt kein Alkaloid.

VIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von p-aminobenzoesaurem Kalium. (Konzentration wie zuvor.)

Das Verhalten entspricht vollkommen dem des m-Aminobenzoats, auch gegenüber dem Brucin. Das Alkaloid beginnt in diesem Fall nach $^1/_2$ Stunde auszukrystallisieren. Demnach besitzt o-aminobenzoesaures Kalium ein sehr viel größeres hydrotropisches Lösungsvermögen als seine beiden Isomeren.

IX.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von o-jodbenzoesaurem Kalium. (18 g Säure mit KOH neutralisiert in 60 ccm H_2O.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol klar löslich in 1,0 ccm o-Jodbenzoatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm Essigester klar gelöst nach kurzem Schütteln von 8,0 ccm o-Jodbenzoat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löslich in 8,0 ccm o-Jodbenzoat. H_2O beliebig vertragen.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd wird geschüttelt mit 12,0 ccm o-Jodbenzoat; die Lösung ist jedoch nicht vollständig. Die milchige Trübung, die ein Wasserzusatz bewirkt, zeigt die teilweise erfolgte Auflösung an.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon leicht löslich in 1,0 ccm o-Jodbenzoat. 0,5 ccm H_2O trüben.

6. 1,0 ccm Anilin löslich in 4,0 ccm o-Jodbenzoat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O beginnende Trübung.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich schon klar in 0,5 ccm o-Jodbenzoat. 0,5 ccm H_2O bewirken wieder Trübung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol klar löslich in 2,0 ccm o-Jodbenzoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O trüben.

9. 2,0 ccm 3 $^0/_0$ ige HCl-Brucinlösung wird durch 2,0 ccm o-Jodbenzoat getrübt. 1,0 ccm 15 $^0/_0$ ige NaOH bewirkt wieder klare Lösung.

10. 0,5 g Casein lösen sich spielend in 4,0 ccm o-Jodbenzoat. 4,0 ccm Amylalkohol glatt vertragen.

X.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von m-chlorbenzoesaurem Kalium. (12,5 g Säure, neutralisiert mit KOH, in 34 ccm H_2O).

1. 1,0 ccm Amylalkohol löslich in 1,0 ccm m-Chlorbenzoatlösung. 2,0 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O Schichtenbildung.

2. 1,0 ccm Essigester klar gelöst von 2,0 ccm m-Chlorbenzoat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löslich in 4,0 ccm m-Chlorbenzoat. H_2O beliebig vertragen.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich klar in 4,0 ccm m-Chlorbenzoat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon klar löslich in 1,0 ccm m-Chlorbenzoat. 2,0 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O trüben.

6. 1,0 ccm Anilin leicht löslich in 2,0 ccm m-Chlorbenzoat. 0,75 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

7. 1,0 ccm Chinolin spielend löslich in 1,0 ccm m-Chlorbenzoat. 2,5 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O trüben.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol leicht löslich in 1,0 ccm m-Chlorbenzoat. 2,0 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung mischt sich klar mit 2,0 ccm m-Chlorbenzoat. 1,0 ccm 15%ige NaOH läßt das Gemisch völlig klar.

10, 0,5 g Casein lösen sich leicht in 4,0 ccm m-Chlorbenzoat. 4,0 ccm Phenyläthylalkohol vertragen.

XI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von p-brombenzoesaurem Kalium. (8 g Säure, mit KOH neutralisiert, in 125 ccm. Die Lösung bleibt klar nur bei 50° und wurde bei dieser Temperatur geprüft.)

1. 0,5 ccm Amylalkohol lösen sich in 10,0 ccm p-Brombenzoatlösung. H_2O bewirkt Trübung.

2. 0,5 ccm Chinolin lösen sich in 10,0 ccm p-Brombenzoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O trüben.

3. 0,5 ccm Phenyläthylalkohol lösen sich in 12,0 ccm p-Brombenzoat. 1,0 ccm H_2O trübt.

4. 0,25 g Casein lösen sich beim Kochen in 15,0 ccm p-Brombenzoat.

XII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von o-oxybenzoesaurem Natrium. (4n-Natriumsalicylat.)

Das Salicylat wurde wegen der leichten Zugänglichkeit und des besonderen Interesses, das es bietet, wieder eingehender untersucht.

1a. 2,0 ccm Amylalkohol lösen sich bereits in 1,0 ccm Salicylatlösung.

1b. 2,0 ccm Amylalkohol leicht löslich in 2,0 ccm Salicylat. 4,0 ccm H_2O vertragen, 4,5 H_2O trüben, mehr Wasser bewirkt Sonderung in Schichten.

2a. 1,0 ccm sec. Octylalkohol klar gelöst in 0,5 ccm Salicylat.

2b. 1,0 ccm sec. Octylalkohol klar gelöst in 1,0 ccm Salicylat. 0,3 ccm H_2O vertragen, 0,5 ccm H_2O Trübung.

3a. 2,0 ccm Essigester glatt gelöst in 1,0 ccm Salicylat. 0,3 H_2O vertragen, 0,5 ccm H_2O Schichtenbildung.

3b. 2,0 ccm Essigester gelöst in 2,0 ccm Salicylat, vertragen, 1,6 ccm H_2O. 2,0 ccm H_2O Schichtenbildung.

4a. 1,0 ccm Paraldehyd löslich in 4,0 ccm Salicylat.

4b. 2,0 ccm Paraldehyd gelöst in 6,0 ccm Salicylat. H_2O beliebig vertragen.

5. 2,0 ccm Citral glatt löslich in 1,5 ccm Salicylat. 1,0 ccm H_2O trüben.

6. 2,0 ccm Citronellol glatt gelöst von 2,0 ccm Salicylat. 0,4 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

7. 1,0 ccm Geraniol klar gelöst in 1,0 ccm Salicylat. 0,2 ccm H_2O vertragen, 0,5 ccm H_2O Trübung.

8. 1,0 ccm Pulegon gelöst durch 4,0 ccm Salicylat. 0,4 ccm H_2O vertragen, 0,6 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm Thujon löst sich in 2,0 ccm Salicylat unter Erzeugung einer perlmutterartig grünrot schillernden Lösung. H_2O trübt unter Aufhebung des Irisierens.

10. 2,0 ccm Benzaldehyd klar löslich in 2,0 ccm Salicylat. 0,2 ccm H_2O trüben.

11. 2,0 ccm Zimtaldehyd glatt mischbar mit 2,0 ccm Salicylat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt unter Bildung dicker Öltropfen.

12a. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich in 1,0 ccm Natriumsalicylat.

12b. 1,0 ccm Diäthylketon, gemischt mit 2,0 ccm Salicylat, vertragen 2,5 ccm H_2O; bei 3,0 ccm H_2O erfolgt Trübung.

13. 1,0 ccm Acetophenon glatt löslich in 1,0 ccm Salicylat. Setzt man noch 1,0 ccm Salicylat hinzu, so wird 1,0 ccm

H_2O vertragen; beim Erwärmen jedoch oder auf Zugabe von mehr Wasser erfolgt Ölabscheidung.

14a. 2,0 ccm Benzylalkohol glatt mischbar mit 1,0 ccm Salicylat.

14b. 2,0 ccm Benzylalkohol gemischt mit 2,0 ccm Salicylat vertragen 5,5 ccm H_2O, 6,0 ccm H_2O bewirken Trübung.

15a. 2,0 ccm Phenyläthylalkohol glatt mischbar mit 1,0 ccm Salicylat.

15b. 2,0 ccm Phenyläthylalkohol, gemischt mit 2,0 ccm Salicylat, vertragen 5,0 ccm H_2O, während 5,5 ccm H_2O trüben.

16a. 2,0 ccm Zimtalkohol (verflüssigt) ohne weiteres mischbar mit 1,0 ccm Salicylat.

16b. 2,0 ccm Zimtalkohol, gelöst in 2,0 ccm Salicylat, vertragen 1,5 ccm H_2O. 2,0 ccm H_2O trüben.

17a. 2,0 ccm Eugenol glatt mischbar mit 1,0 ccm Salicylat.

17b. 2,0 ccm Eugenol, gelöst in 2,0 ccm Salicylat, vertragen 0,5 ccm H_2O, während 1,0 ccm H_2O trübt.

18. 1,0 ccm Zyklohexanol gibt mit 0,5 ccm Salicylat eine dichroitische Flüssigkeit. 1,0 ccm Salicylat löst klar. 5,0 ccm H_2O werden alsdann vertragen, 6,0 ccm H_2O trüben.

19a. 2,0 ccm Zyklohexanon glatt mischbar mit 1,0 ccm Salicylat.

19b. 2,0 ccm Zyklohexanon, gelöst in 2,0 ccm Salicylat, vertragen 6,0 ccm H_2O. 7,0 ccm H_2O bewirken Trübung.

20. 0,1 ccm Nitrobenzol löst sich auf in 3,0 ccm Salicylat. 0,6 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O starke milchige Trübung.

21. 0,1 ccm o-Nitrotoluol wird gelöst durch 4,0 ccm Salicylat. 0,3 ccm H_2O trüben milchig.

22a. 1,0 ccm Anilin glatt mischbar mit 1,0 ccm Salicylat. 0,5 ccm H_2O vertragen, bei mehr H_2O erfolgt Trübung.

22b. 2,0 ccm Anilin, gelöst in 4,0 ccm Salicylat, vertragen ohne Entmischung Zugabe von 4,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

23. 0,5 ccm Methylanilin werden gelöst von 10,0 ccm Salicylat beim Erwärmen. 2,0 ccm H_2O vertragen.

24a. 2,0 ccm Chinolin glatt mischbar mit 0,5 ccm Salicylat. 1,0 ccm H_2O vertragen. 1,5 ccm H_2O trüben.

24b. 2,0 ccm Chinolin, gelöst in 2,0 ccm Salicylat, geben auf Zusatz von 8,5 ccm H_2O eine milchweiß opalisierende, aber sich nicht entmischende Flüssigkeit, die wie eine trübe Eiweißlösung aussieht. 9,0 ccm H_2O bewirken Abscheidung von Chinolin in Tröpfchen.

25. 1,0 ccm Isochinolin mischbar mit 4,0 ccm Salicylat. 1,0 ccm H_2O glatt vertragen, bei Zusatz von 5,0 ccm H_2O senkt sich Isochinolin als Öl zu Boden.

26. 0,1 g Indol löst sich beim Schütteln in 10,0 ccm Salicylat. H_2O beliebig vertragen.

27. 0,2 ccm Benzonitril lösen sich in 2,0 ccm Salicylat. 0,7 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trüben.

28a. 5,0 ccm 1 $^0/_0$ige HCl-Chininlösung geben mit 4,0 ccm Salicylat eine klare Lösung, wobei eine zunächst auftretende Fällung wieder verschwindet. 10,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH glatt vertragen.

28b. 5,0 ccm 1 $^0/_0$ige HCl-Chininlösung mit 4,0 ccm H_2O und 10,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH geben eine dicke Fällung von Alkaloid.

29a. 5,0 ccm 1 $^0/_0$ige Brucinsulfatlösung, gemischt mit 1,0 ccm Salicylat, bleibt klar auf Zusatz von 1,0 ccm 15 $^0/_0$iger NaOH.

29b. 5,0 ccm 1 $^0/_0$ige Brucinsulfatlösung und 1,0 ccm H_2O geben mit 1,0 ccm 15 $^0/_0$iger NaOH einen weißen Niederschlag der freien Base. Endlösung 29b löst sich auf Zusatz der Endlösung 29a klar auf.

30a. 1,0 ccm 2 $^0/_0$ige Optochinchlorhydratlösung gibt mit 2,0 ccm Salicylat nach vorübergehender Trübung eine klare Lösung. Dieselbe bleibt auf Zusatz von 2,0 ccm 10 $^0/_0$iger Sodalösung klar, trübt sich jedoch nach mehreren Minuten.

30b. 1,0 ccm 2 $^0/_0$ige Optochinchlorhydratlösung, 2,0 ccm Salicylatlösung und 1,0 ccm $^n/_{10}$-Lauge geben eine klare, stark alkalische Lösung.

31. 0,5 g Casein lösen sich leicht in einer Mischung von 2,0 ccm Salicylat und 2,0 ccm H_2O. Die Mischung verträgt

Zugabe von 10,0 ccm abs. Alkohol, 20,0 ccm abs. Alkohol flocken aus.

32. 0,2 Pankreasnucleoproteid lösen sich klar beim Erwärmen in 1,0 ccm Salicylat oder in dem Gemisch von 1,0 ccm Salicylat und 1,0 ccm H_2O. Viel H_2O trübt schwach, Alkohol fällt.

33. 0,02 g Harnsäure lösen sich klar in einem angewärmten Gemisch von 3,0 ccm H_2O + 2,0 ccm Salicylat. Die Lösung bleibt 1 Stunde klar. Hinreichend Alkohol fällt Harnsäure bzw. Urat.

34. 2,0 ccm unverdünnte Milch werden durch 2,0 ccm Salicylat namentlich beim Erwärmen stark aufgehellt, fast geklärt. Zusatz von H_2O trübt wieder.

35. 5,0 ccm nicht ganz durchsichtiger Hefemacerationssaft klärt sich völlig auf durch Zugabe von 5,0 ccm Salicylat. Beim Erhitzen erfolgt keine Gerinnung. 4,0 ccm Amylalkohol können hinzugefügt werden, ohne daß Trübung erfolgt.

Ein Lösungsvermögen des Salicylates wurde durch qualitative Proben auch noch festgestellt für folgende Substanzen: Toluol, Cholesterin, Trioxymethylen, β-Trithioacetaldehyd. Ferner lösen sich mehr oder minder stark folgende Farbstoffe: krystallisierter Indigo (wenig), Sudan I (erheblich, mit Wasser wieder in Flocken fällbar), Nigrosin wasserunlöslich (beträchtlich, durch viel Wasser wieder in Flocken fällbar), Alizarin (deutlich, durch viel Wasser wieder getrübt), Chlorophyll puriss. Merck (löslich). In der Wärme werden auch aufgenommen: Mesoporphyrin, Hämatoporphyrin und α-Phylloporphyrin.

XIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von m-oxybenzoesaurem Natrium. (50 volumprozentige Lösung.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol glatt gelöst von 1,0 ccm m-Oxybenzoatlösung, 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm Essigester klar gelöst von 6,0 ccm m-Oxybenzoat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm **Diäthylketon** beim Schütteln gelöst von 8,0 ccm m-Oxybenzoat. H_2O beliebig vertragen.

4. 1,0 ccm **Zimtaldehyd** werden von 12,0 ccm m-Oxybenzoat nicht ganz klar gelöst. H_2O trübt milchig.

5. 1,0 ccm **Zyklohexanon** klar gelöst von 1,0 ccm m-Oxybenzoat. 0,4 ccm H_2O vertragen, 0,5 ccm H_2O Trübung.

6. 1,0 ccm **Anilin** löst sich beim Schütteln in 10,0 ccm m-Oxybenzoat. H_2O wird beliebig vertragen.

7. 1,0 ccm **Chinolin** löst sich klar in 1,0 ccm m-Oxybenzoat; 1,0 ccm H_2O vertragen, 1,5 ccm H_2O Trübung.

8. 1,0 ccm **Phenyläthylalkohol** glatt mischbar mit 1,0 ccm m-Oxybenzoat. 0,5 ccm H_2O trüben.

9. 2,0 ccm 3 $^0/_0$ige **HCl-Brucinlösung**, gemischt mit 2,0 ccm m-Oxybenzoat, bleibt zunächst klar auf Zusatz von 1,0 ccm 15 $^0/_0$iger NaOH. Nach 20 Minuten beginnt Trübung.

10. 0,5 g **Casein** lösen sich in 4,0 ccm m-Oxybenzoat. Die Lösung ist klar mischbar mit 4,0 ccm Phenyläthylalkohol. Sie bleibt auch beim Kochen und beim Aufbewahren klar und zeigt eine glycerinähnliche Beschaffenheit.

XIV.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von p-oxybenzoesaurem Natrium. (50 g Salz in 120 ccm Lösung.)

1. 1,0 ccm **Amylalkohol** wird von 10,0 ccm p-Oxybenzoatlösung nicht gelöst.

2. 1,0 ccm **Essigester** wird von 8,0 ccm p-Oxybenzoat nicht gelöst.

3. 1,0 ccm **Diäthylketon** wird von 8,0 ccm p-Oxybenzoat nicht gelöst. 2,0 ccm H_2O bewirken keine Auflösung.

4. 1,0 ccm **Zimtaldehyd** löst sich in 8,0 ccm p-Oxybenzoat nur zu geringen Teilen.

5. 1,0 ccm **Zyklohexanon** löst sich in 6,0 ccm p-Oxybenzoat nicht vollständig.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich nicht in 14,0 ccm p-Oxybenzoat.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich auf in 2,0 ccm p-Oxybenzoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 1,5 ccm H_2O Trübung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich nicht in 8,0 ccm p-Oxybenzoat.

9. Setzt man 2,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung zu einem Gemisch von 4,0 ccm p-Oxybenzoat und 1,0 ccm 15%iger NaOH, so erhält man eine klare Mischung. Ohne vorherige Zugabe von NaOH entsteht beim Mischen von HCl-Brucin und p-Oxybenzoat ein Niederschlag.

10. 0,5 g Casein lösen sich beim Erwärmen klar auf in 4,0 ccm p-Oxybenzoat. Diese Lösung mischt sich nicht mit Amylalkohol, der ja gemäß Ergebnis des Versuches 1 Seite 140 in p-Oxybenzoat unlöslich ist.

Demnach besitzt das p-Oxybenzoat den geprüften Verbindungen gegenüber eine viel geringere hydrotropische Kraft als o- und m-Oxybenzoat. Die Lösungskraft des p-Oxybenzoats beschränkt sich auf die tertiäre Base Chinolin, sowie auf das Alkaloid und das Protein.

Durch Verwandlung der p-Oxybenzoesäure in den Methyläther nimmt die hydrotropische Wirksamkeit wieder stark zu; das zeigt das nachstehend aufgeführte Verhalten der Anisate.

XV.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von p-methoxybenzoesaurem Natrium (anissaurem Natrium). (20 g Salz mit Wasser zu 60 ccm gelöst, 60° warm.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich in 4,0 ccm Anisatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben. (Kurz bevor klare Auflösung des Amylalkohols erfolgt, zeigt das Gemisch ein leuchtendes gelbbraunes Schimmern).

2. 0,5 ccm Essigester löslich in 4,0 ccm Anisat. H_2O beliebig vertragen.

3. 0,5 ccm Diäthylketon löslich in 4,5 ccm Anisat. H_2O beliebig vertragen.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd löslich in 8,0 ccm Anisat. 1,0 ccm H_2O trübt.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 4,0 ccm Anisat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O trüben.

6. 0,5 ccm Anilin löslich in 3,0 ccm Anisat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich spielend in 2,0 ccm Anisat. 1,0 ccm H_2O bewirkt Trübung mit Ölabscheidung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol glatt mischbar mit 1,0 ccm Anisat. 0,5 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung ist ohne Trübung mischbar mit 2,0 ccm Anisat. 1,0 ccm 15%ige NaOH erzeugt keinen Niederschlag.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 4,0 ccm Anisat. 4,0 ccm Alkohol werden vertragen.

XVI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von m-toluylsaurem Kalium. (18%ige Lösung.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol wird klar gelöst von 1,0 ccm m-Toluylatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 0,5 ccm Essigester lösen sich in 3,0 ccm m-Toluylat. H_2O beliebig vertragen.

3. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich in 5,0 ccm m-Toluylat. H_2O beliebig vertragen.

4. 0,1 ccm Zimtaldehyd braucht 10,0 ccm m-Toluylatlösung zur Auflösung. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O stark milchige Trübung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon wird gelöst von 3,0 ccm m-Toluylat. 1,0 ccm H_2O bewirkt Trübung.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich beim Umschütteln in 8,0 ccm m-Toluylat. 1,0 ccm H_2O trübt.

7a. 1,0 ccm Chinolin löst sich klar in 1,0 ccm m-Toluylat. 1,0 ccm H_2O scheidet die Base als Öl ab.

7b. 1,0 ccm Chinolin löst sich klar in 5,0 ccm m-Toluylat. Diese Mischung verträgt den Zusatz 2,5 ccm H_2O.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich in 1,0 ccm m-Toluylat. 1,0 ccm H_2O trübt unter Abscheidung einer Ölschicht.

9. 2,0 ccm 3 %ige Brucinchlorhydratlösung bleibt klar auf Zugabe von 2,0 ccm m-Toluyat und verträgt den Zusatz von 2,0 ccm 15 %ige NaOH.

10. 0,5 g Casein lösen sich klar in 4,0 ccm m-Toluylat. Zu der Mischung kann das gleiche Volumen Alkohol gefügt werden.

XVII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von o-kresotinsaurem Kalium (34 %ige Lösung).

1. 1,0 ccm Amylalkohol leicht löslich in 1,0 ccm o-Kresotinatlösung. 3,0 ccm H_2O vertragen, 3,5 ccm H_2O bewirkt Trübung, mehr H_2O Trennung in Schichten.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich bereits in 0,5 ccm o-Kresotinat. Nimmt man im ganzen 1,0 ccm o-Kresotinat, so wird 1,0 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O scheidet Öl ab.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich klar in 2,0 ccm o-Kresotinat. 2,0 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O Trübung.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd, gelöst in 2,0 ccm o-Kresotinat, verträgt 1,0 ccm H_2O. 1,5 ccm H_2O trübt.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon, gelöst in 1,0 ccm o-Kresotinat, verträgt 3,5 ccm H_2O. Mehr H_2O scheidet Öl ab.

6. 1,0 ccm Anilin, gelöst in 1,0 ccm o-Kresotinat, verträgt 0,5 ccm H_2O, während mehr Wasser die Base ölig abscheidet.

7. 1,0 ccm Chinolin, das sich glatt mischt mit 1,0 ccm o-Kresotinat, verträgt den Zusatz von 3,5 ccm H_2O. 4,0 ccm H_2O erzeugen Opalescenz, 5,0 ccm H_2O Trübung, mehr H_2O Ölabscheidung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol, gelöst in 1,0 ccm o-Kresotinat, verträgt den Zusatz von 3,0 ccm H_2O. 3,5 ccm H_2O beginnende Trübung.

9. 2,0 ccm 3 %ige HCl-Brucinlösung mischt sich klar mit 1,0 ccm o-Kresotinat und verträgt den Zusatz von 1,0 ccm 15 %iger NaOH.

10. 0,5 g Casein lösen sich leicht in 4,0 ccm o-Kresotinat. Das Gemisch kann mit dem gleichen Volumen Amylalkohol versetzt werden, ohne daß Trübung auftritt.

XVIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von p-kresotinsaurem Natrium. (25 %ige Lösung, 40° warm.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol klar gelöst von 1,0 ccm p-Kresotinatlösung. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

2. 1,0 ccm Essigester klar löslich in 4,0 ccm p-Kresotinat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löslich in 4,0 ccm p-Kresotinat; H_2O trübt.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd lösen sich in 6,0 ccm p-Kresotinat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O milchige Trübung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon klar löslich in 1,0 ccm p-Kresotinat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 1,5 ccm H_2O trüben.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich klar in 4,0 ccm p-Kresotinat. 1,0 ccm H_2O beginnende Trübung, 2,0 ccm H_2O Ausfällung.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 1,0 ccm p-Kresotinat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol klar löslich in 1,0 ccm Kresotinat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

9. 2,0 ccm 30 %ige HCl-Brucinlösung bleibt klar auf Zusatz von 2,0 ccm p-Kresotinat. 1,0 ccm 15 %ige NaOH wird vertragen. (Nach 1 Stunde beginnt das Alkaloid auszukrystallisieren.)

10. 0,5 g Casein spielend löslich in 4,0 ccm p-Kresotinat. Glatt mischbar mit 4,0 ccm Benzylalkohol.

XIX.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von 3,5 dijodsalicylsaurem Natrium. (20 g in 150 ccm H_2O; die Lösung muß 80° warm angewendet werden, da sonst das Salz ausfällt.)

1. Die Mischung von 1,0 ccm Amylalkohol + 4,0 ccm Dijodsalicylatlösung wird beim Abkühlen klar. 0,5 ccm H_2O trüben, mehr H_2O schichtet.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich beim Abkühlen in 6,0 ccm Dijodsalicylat. H_2O beliebig vertragen.

3. 0,5 ccm Diäthylketon, gemischt mit 5,0 ccm Dijodsalicylat, ergeben beim Abkühlen klare Lösung. H_2O beliebig vertragen.

4a. 1,0 ccm Zimtaldehyd, gemischt mit 13,0 ccm Dijodsalicylat, wird klar bei 30°. Bei 50° beginnt eine Opalescenz, und bei 60° tritt eine starke milchige Trübung ein. Durch Abkühlen auf 30° wird das Gemisch wieder klar. Bei weiterer Abkühlung auf 24° beginnt eine Kältetrübung, die bei 20° die ganze Mischung opak macht. Die bei 30° klare Mischung wird durch Zusatz von 5,0 ccm H_2O milchig getrübt, während mehr H_2O direkte Ölabscheidung bewirkt.

4b. 10,0 ccm Dijodsalicylatlösung werden mit 1,0 ccm Zimtaldehyd bei 60° klar. Bei diesen Mengenverhältnissen bewirkt eine Steigerung der Temperatur auf 70° Hitzetrübung und eine Erniedrigung auf 55° Kälteausscheidung. Bei 60° erfolgt stets wieder homogene klare Lösung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 2,0 ccm Dijodsalicylat. 0,5 ccm H_2O trüben.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich in 8,0 ccm Dijodsalicylat. H_2O beliebig vertragen.

7. 1,0 ccm Chinolin wird gelöst von 5,0 ccm Dijodsalicylat. H_2O-Zusatz beliebig.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol klar löslich in 4,0 ccm Dijodsalicylat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung gibt mit 2,0 ccm Dijodsalicylat einen Niederschlag. Dieser wird klar gelöst von 1,0 ccm 15%iger NaOH.

10. 0,5 g Casein lösen sich nur schwierig und nicht ganz vollständig in 6,0 ccm Dijodsalicylat.

XX.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von phtalsaurem Kalium (30%ige Lösung.)

Sämtliche Substanzen 1—9 sind nicht oder sehr schwer

löslich. Dagegen löst sich 0,25 g Casein beim Erhitzen in 4,0 ccm Phtalatlösung. Die Mischung verträgt dann Zusatz von 4,0 ccm Äthylalkohol.

XXI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösungen von 2,5-dioxybenzoesaurem Kalium (gentisinsaures Kalium). (15%ige Lösung.)

Die meisten der verwendeten Substanzen sind kaum löslich. Anilin löst sich schwer.

1. 1,0 ccm Chinolin löst sich klar in 4,0 ccm Gentisinatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung ist ohne Trübung mischbar mit 2,0 ccm Gentisinat. 1,0 ccm $^n/_1$-NaOH bewirkt keinerlei Fällung.

3. 0,5 g Casein lösen sich in 4,0 ccm Gentisinat. 4,0 ccm Alkohol werden vertragen.

XXII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von 2,4-dioxybenzoesaurem Kalium (β-resorcylsaures Kalium). (15%ige Lösung.)

Das Verhalten des Resorcylates entspricht fast vollkommen dem des Gentisinates. Beim Brucin liegen die Verhältnisse folgendermaßen: Mischt man 4,0 ccm Resorcylatlösung mit 1,0 ccm 15%iger NaOH, so bleibt diese Mischung klar auf Zugabe von 1,0 ccm 3%iger Brucinchlorhydratlösung. Nach einigen Minuten beginnt aber die Krystallisation.

XXIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von benzolsulfinsaurem Kalium. (10 g Säure mit KOH neutralisiert und auf 40 ccm aufgefüllt.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol leicht löslich in 1,0 ccm Benzolsulfinatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 0,5 ccm Essigester löslich in 4,5 ccm Benzolsulfinat. H_2O trübt sofort.

3. 0,5 ccm Diäthylketon löslich in 6,0 ccm Benzolsulfinat. H_2O trübt.

4. 0,2 ccm Zimtaldehyd nahezu löslich in 4,0 ccm Benzolsulfinat. H_2O trübt stark.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 6,0 ccm Benzolsulfinat. H_2O trübt.

6. 0,5 ccm Anilin löslich in 4,0 ccm Benzolsulfinat. 0,5 ccm H_2O trüben. Mehr Wasser scheidet Öl ab.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 1,0 ccm Benzolsulfinat. 0,5 ccm H_2O trüben.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol leicht löslich in 1,0 ccm Benzolsulfinat. 0,5 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung bleibt klar auf Zugabe von 2,0 ccm Benzolsulfinat. 1,0 ccm 15%ige NaOH fällt kein Alkaloid.

10. 0,5 g Casein leicht löslich in 4,0 ccm Benzolsulfinat. 4,0 ccm Phenyläthylalkohol können der Mischung zugesetzt werden, ohne daß Trübung erfolgt.

XXIV.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von benzolsulfosaurem Natrium. (44%ige Lösung.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löslich in 3,0 ccm Benzolsulfonatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 0,5 ccm Essigester lösen sich beim Schütteln in 4,0 ccm Benzolsulfonat. H_2O beliebig vertragen.

3. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich in 5,0 ccm Benzolsulfonat. H_2O beliebig vertragen.

4. 0,2 ccm Zimtaldehyd lösen sich nahezu in 8,0 ccm Benzolsulfonat. Wasserzusatz bewirkt starke milchige Trübung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 3,0 ccm Benzolsulfonat. 1,0 ccm H_2O führt Ölabscheidung herbei.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich glatt in 4,0 ccm Benzolsulfonat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 1,0 ccm Benzolsulfonat. 0,5 ccm Ölabscheidung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol leicht löslich in 1,0 ccm Benzolsulfonat. 0,5 ccm H_2O bewirken Ölabscheidung.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung, gemischt mit 2,0 ccm Benzolsulfonat, bleibt klar auf Zugabe von 1,0 ccm 15%iger NaOH.

10. 0,5 g Casein lösen sich beim Erwärmen in 4,0 ccm Benzolsulfonat. 4,0 ccm Äthylalkohol vertragen.

XXV.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von p-toluolsulfosaurem Natrium. (50%ige Lösung.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol leicht löslich in 0,5 ccm p-Toluolsulfonatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm Essigester löslich in 4,0 ccm p-Toluolsulfonat. H_2O beliebig.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löslich in 6,0 ccm p-Toluolsulfonat. H_2O beliebig.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich in der Kälte wie in der Wärme klar in 12,0 ccm p-Toluolsulfonat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O Trübung, mehr H_2O Ölabscheidung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon leicht löslich in 0,5 ccm p-Toluolsulfonat. 0,5 ccm H_2O Trübung, mehr H_2O Ölabscheidung.

6a. 1,0 ccm Anilin leicht löslich in 0,5 ccm p-Toluolsulfonat. 0,5 ccm H_2O Trübung.

6b. Mischt man 4,0 ccm p-Toluolsulfonat mit 1,0 ccm Anilin, so erfolgt im ersten Augenblick klare Lösung, dann erstarrt die Masse bemerkenswerterweise zu einem Krystallbrei.

7a. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 0,5 ccm p-Toluolsulfonat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

7b. Schichtet man beide Flüssigkeiten vorsichtig übereinander, so entstehen an der Berührungsstelle Krystalle. Eine gesättigte p-Toluolsulfonatlösung gibt mit Chinolin eine Abscheidung leicht zerfließlicher Krystalle.

8a. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich in 0,5 ccm p-Toluolsulfonat. Beim Abkühlen bilden sich Krystalle, die bei gelindem Erwärmen schmelzen. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O veranlaßt Ölabscheidung.

8b. Mischt man 1,0 ccm Phenyläthylalkohol mit 3 bis 4 ccm p-Toluolsulfonat, so entsteht ein Brei perlmutterig glänzender Krystalle, die sich beim Erwärmen klar im vorhandenen H_2O lösen, beim Abkühlen aber wieder ausfallen.

9. 1,0 ccm 3⁰/₀iges HCl-Brucin, gemischt mit 1,0 ccm p-Toluolsulfonat, bleibt auf Zugabe von 1,0 ccm 15⁰/₀iger NaOH zunächst klar, dann erfolgt eine opake Trübung, ohne daß Krystallisation eintritt.

10. 0,5 g Casein lösen sich sehr leicht in 4,0 ccm p-Toluolsulfonat. Diese Lösung ist mischbar sogar mit 6,0 ccm Amylalkohol.

Das weitere Studium der Hydrotropie wird aus der näheren Untersuchung der Verhältnisse beim p-Toluolsulfonat Nutzen ziehen können, da hier leicht krystallisierende Doppelverbindungen entstehen. Anhangsweise sei bemerkt, daß äthylsulfosaures Natrium nicht hydrotropisch wirkt, während Benzylsulfonate einigen Verbindungen gegenüber Hydrotropie erkennen lassen.

Wie im vorausgehenden auseinandergesetzt worden ist, kamen hydrotropische Erscheinungen zuerst bei Benzolderivaten zur Beobachtung und konnten bereits für etwa 30 Abkömmlinge in mehr oder minder ausgeprägter Weise dargetan werden. Bei der damit erwiesenen Verbreitung der hydrotropischen Eigenschaften war es wenig wahrscheinlich, daß sich das Vorkommen entsprechender Substanzen auf die Benzolreihe beschränken solle. Die Prüfung einiger Verbindungen, die sich vom Naphtalinring ableiten, zeigte dann auch sofort, daß hydrotropische Salze in dieser Gruppe ebenfalls zu finden sind. Zu den Versuchen dienten: α- und β-Naphtoesäure, α- und β-Naphtalinsulfosäure sowie α- und β-Oxynaphtoesäure.

Da die Salze der beiden Naphtoesäuren in Wasser nicht leicht löslich sind, so konnten nur verdünnte Lösungen benutzt werden. In diesen Fällen trat der zuvor (S. 109) erwähnte Umstand zutage, daß bei Lösungen von geringer Konzentration auch die hydrotropische Kraft sich schwächer offenbart. Dieses äußerliche Hemmnis fällt fort bei den leicht löslichen Salzen der Oxynaphtoesäuren und Naphtalinsulfosäuren.

Gegen eine größere Anzahl von Verbindungen wurde das Verhalten des den Oxybenzoaten entsprechenden α-oxynaphtoesauren Natriums geprüft.

XXVI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von α-oxynaphtoesaurem Natrium. (37,6 g α-Oxynaphtoesäure gelöst mit 100 ccm $^2/_n$-NaOH zu 376 ccm; die Lösung bleibt bei 40° klar und übersättigt.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich in 2,0 ccm α-Oxynaphtoatlösung. 1,0 ccm H_2O trübt.

2. 1,0 ccm sec. Octylalkohol löslich in 10,0 ccm α-Oxynaphtoat, wobei vorübergehend eine gallertige Fällung auftritt. 1,0 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O trübt.

3. 0,5 ccm Essigester lösen sich in 1,5 ccm α-Oxynaphtoat, wobei zunächst eine grünlich schillernde, irisierende Flüssigkeit entsteht. 1,0 ccm H_2O scheidet eine Esterschicht ab.

4. 0,5 ccm Paraldehyd werden gelöst durch 3,0 ccm α-Oxynaphtoat. H_2O wird dann beliebig vertragen.

5a. 1,0 ccm Önanthol löst sich in 12,0 ccm α-Oxynaphtoat bei 35°. Beim Abkühlen wird die Flüssigkeit trübe und dickflüssig. Beim Erwärmen setzt sich das Önanthol als scharfe Schicht ab. Bei Herstellung einer Temperatur von 35—40° erfolgt stets wieder klare Lösung. Dieselbe verträgt den Zusatz von 4,0 ccm H_2O.

5b. Bei 34° löst sich 1,0 ccm Önanthol in 4,0 ccm α-Oxynaphtoat klar auf. Bei 38° erfolgt alsdann Hitzetrübung, bei 31° Abkühlungstrübung und bei 29° beginnt eine Gelatinierung; bei 34° tritt stets wieder klare Lösung ein.

6. 0,1 ccm Citronellol braucht 1,5 ccm α-Oxynaphtoat zur Lösung. 0,1 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O fällt.

7. 0,1 ccm Geraniol löst sich in 1,0 ccm α-Oxynaphtoat. 0,1 ccm H_2O vertragen.

8. 0,1 ccm Benzaldehyd löst sich in 1,5 ccm α-Oxynaphtoat. 0,1 ccm H_2O trüben milchig, mehr H_2O scheidet Benzaldehyd in Öltropfen ab.

9. 1,0 ccm Zimtaldehyd wird gelöst von 10,0 ccm α-Oxynaphtoat. 2,0 ccm H_2O vertragen, 4,0 ccm H_2O trüben stark.

10. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich auf in 3,0 ccm α-Oxynaphtoat. H_2O beliebig vertragen.

11. 0,5 ccm Acetophenon lösen sich in 4,0 ccm α-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 1,5 ccm H_2O trüben.

12. 1,0 ccm Benzylalkohol löst sich in 2,0 ccm α-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O trübt.

13. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich in 2,0 ccm α-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O trübt.

14. 1,0 ccm Zimtalkohol (verflüssigt) löst sich auf in 4,0 ccm α-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O trübt.

15. 0,1 ccm Eugenol löst sich in 1,0 ccm α-Oxynaphtoat. H_2O-Zusatz trübt.

16. 1,0 ccm Zyklohexanol löst sich in 1,0 ccm α-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O fällt.

17. 2,0 ccm Zyklohexanon lösen sich in 4,0 ccm α-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O trübt.

18. 0,1 ccm Pulegon löst sich in der Kälte in 2,0 ccm α-Oxynaphtoat. Erwärmung und Wasserzusatz trüben.

19. 0,1 ccm Thujon wird gelöst von 2,5 ccm α-Oxynaphtoat. Erwärmung oder Wasserzusatz bewirken Trübung.

20. 0,1 ccm Nitrobenzol löst sich in 6,0 ccm α-Oxynaphtoat zu einer gelbbraunen Flüssigkeit. 0,3 ccm H_2O trüben milchig, mehr H_2O scheidet das Nitrobenzol in Öltropfen ab.

21. 0,1 ccm o-Nitrotoluol löst sich in 6,0 ccm α-Oxynaphtoat. 0,2 ccm H_2O trüben.

22. 1,0 ccm Anilin löst sich glatt in 7,0 ccm α-Oxynaphtoat. Ein Zusatz von 3,5 ccm H_2O wird vertragen.

23. 1,0 ccm Phenylhydrazin löst sich in 1,0 ccm α-Oxynaphtoat. Die Mischung verträgt beliebig H_2O.

24. 1,0 ccm Chinolin löst sich glatt in 2,0 ccm α-Oxynaphtoat. 2,0 ccm H_2O werden vertragen, 2,5 ccm H_2O trüben.

25a. 1,0 ccm α-Oxynaphtoat und 1,0 ccm $15^0/_0$ige NaOH bleibt klar auf Zusatz von 5,0 ccm $1^0/_0$iger Brucinsulfatlösung.

25b. Das Gemisch von 1,0 ccm H_2O und 1,0 ccm 15 %iger NaOH gibt auf Zusatz von 5,0 ccm 1 %iger Brucinsulfatlösung einen weißen Niederschlag.

26a. Versetzt man 5,0 ccm α-Oxynaphtoat mit 1,0 ccm 15 %iger NaOH, so kann man 5,0 ccm 1 %ige Chininchlorhydratlösung zugeben, ohne daß die stark alkalisch reagierende Mischung sich trübt.

26b. Mischt man 5,0 ccm H_2O mit 1,0 ccm 15 %iger NaOH und setzt 5,0 ccm 1 %ige Chininchlorhydratlösung hinzu, so entsteht eine starke Fällung.

27. Das Gemisch von 5,0 ccm α-Oxynaphtoat und 2,0 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH bleibt beim Umschütteln klar auf Zugabe von 1,0 ccm 2 %iger Äthylhydrocupreinchlorhydratlösung. Man kann noch 1,0 ccm 15 %iger NaOH hinzufügen, ohne daß die stark alkalisch reagierende Mischung getrübt wird.

28. 0,1 g Casein löst sich spielend in 2,0 ccm α-Oxynaphtoat. Die Lösung bleibt beim Kochen oder Verdünnen mit H_2O klar. Hinreichend Alkohol, der α-Oxynaphthoat leicht löst, fällt einen weißen Niederschlag.

29. 0,1 g Hefeeiweiß löst sich in 4,0 ccm α-Oxynaphtoat. Die Mischung wird durch Wasserzusatz oder Kochen nicht getrübt.

30. 0,1 g Pankreasnucleoproteid löst sich klar in 2,0 ccm α-Oxynaphtoat. Beim Verdünnen mit H_2O entsteht eine Trübung, die durch erneuten Zusatz von α-Oxynaphthoat in Lösung geht. Alkohol erzeugt in der klaren Lösung einen Niederschlag, der sich in Flocken absetzt.

XXVII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von β-oxynaphtoesaurem Natrium (18,8 g Säure gelöst mit n-Lauge und Wasser zu 188 ccm).

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich klar in 3,0 ccm β-Oxynaphtoatlösung. Nimmt man 4,0 ccm β-Oxynaphtoat, so wird 1,0 ccm H_2O vertragen, während 1,5 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich in 4,0 ccm β-Oxynaphtoat. H_2O wird dann beliebig vertragen. (Nimmt man weniger β-Oxynaphtoat, so entsteht eine goldig-grüne, dichroitische Flüssigkeit.)

3. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich in 4,0 ccm β-Oxynaphtoat. Mit H_2O beliebig mischbar.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd lösen sich in 4,0 ccm β-Oxynaphtoat. 0,5 ccm H_2O trüben, 1,0 ccm H_2O scheidet Öl ab. Die Zugabe von 1,0 ccm β-Oxynaphtoat stellt wieder klare Lösung her.

5. 0,5 ccm Zyklohexanon lösen sich klar in 1,0 ccm β-Oxynaphtoat. 0,5 ccm H_2O trüben, und Zugabe von 0,5 ccm β-Oxynaphtoat löst wieder klar auf.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich in 7,0 ccm β-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O scheidet Öl ab.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich klar in 2,5 ccm β-Oxynaphtoat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 1,5 ccm H_2O Trübung. Mehr H_2O scheidet Öl ab.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich klar in 2,0 ccm β-Oxynaphtoat. 0,5 ccm H_2O bewirken Trübung, mehr H_2O Ölabscheidung.

9. 2,0 ccm $3\,^0/_0$ige HCl-Brucinlösung lösen sich klar beim Umschütteln in 3,0 ccm β-Oxynaphtoat. 1,0 ccm $15\,^0/_0$ige NaOH lassen das Gemisch vollkommen klar.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 4,0 ccm β-Oxynaphtoat. Der Zusatz eines gleichen Volumens Äthylalkohol oder von beliebig H_2O wird vertragen.

XXVIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von α-naphtoesaurem Kalium (8 g Säure nach Neutralisation mit KOH mit H_2O zu 190 ccm).

Wegen der Verdünnung lösen sich die gewöhnlich von 1—8 angeführten Verbindungen nur schwer bzw. gar nicht. Lösungen erhält man dagegen mit Brucin und Casein.

1. 2,0 ccm 3 %ige HCl-Brucinlösung. 4,0 ccm α-Naphtoatlösung bleiben klar auf Zugabe von 1,0 ccm 15 %iger NaOH.

2. 0,25 g Casein lösen sich beim Erwärmen in 4,0 ccm α-Naphtoat.

XXIX.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von β-naphtoesaurem Kalium (6 g Säure neutralisiert mit KOH und gelöst mit H_2O zu 130 ccm).

Das β-Naphtoat verhält sich wie das α-naphtoesaure Salz.

1. 2,0 ccm 3 %ige HCl-Brucinlösung geben auf Zugabe von 4,0 ccm β-Naphtoatlösung, wie so oft, eine Trübung, die sich sofort wieder löst. Das Gemisch bleibt dann auf Zugabe von 1,0 ccm 15 %iger NaOH klar.

2. 0,25 g Casein lösen sich in der Wärme in 4,0 ccm β-Naphtoat.

XXX.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von α-naphtalinsulfosaurem Natrium (25 %ige Lösung).

1. 1,0 ccm Amylalkohol leicht löslich in 2,0 ccm α-Naphtalinsulfonatlösung. 0,5 ccm H_2O bewirken beginnende Trübung, mehr H_2O scheidet Öl ab.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich klar in 5,5 ccm α-Naphtalinsulfonat. H_2O beliebig vertragen.

3. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich in 4,0 ccm α-Naphtalinsulfonat.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd nahezu löslich in 8,0 ccm α-Naphtalinsulfonat. 1,0 ccm H_2O stark milchige Trübung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon leicht löslich in 2,0 ccm α-Naphtalinsulfonat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

6. 1,0 ccm Anilin löslich in 3,0 ccm α-Naphtalinsulfonat. 0,5 ccm H_2O bewirken Opalescenz, 1,0 ccm H_2O milchige Trübung.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 2,0 ccm α-Naphtalinsulfonat. 1,5 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O trüben.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol leicht löslich in 1,0 ccm α-Naphtalinsulfonat. 0,5 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm 3%ige Brucinchlorhydratlösung, gemischt mit 2,0 ccm α-Naphtalinsulfonat, bleibt klar auf Zugabe von 1,0 ccm 15%iger NaOH. Nach 1 Stunde beginnt Krystallisation.

10. 0,5 g Casein löslich in 4,0 ccm α-Naphtalinsulfonat. 4,0 ccm Alkohol werden zunächst vertragen, später erfolgt langsam opake Trübung.

XXXI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von β-naphtalinsulfosaurem Natrium (12,5%ige Lösung. 40° warm).

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich in 6,0 ccm β-Naphtalinsulfonatlösung. 1,0 ccm H_2O bewirkt beginnende Trübung.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich in 7,0 ccm β-Naphtalinsulfonat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich in 10,0 ccm β-Naphtalinsulfonat. H_2O beliebig vertragen.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd lösen sich fast klar in 10,0 ccm β-Naphtalinsulfonat. H_2O bewirkt starke milchige Trübung.

5. 0,5 ccm Zyklohexanon lösen sich auf in 2,0 ccm β-Naphtalinsulfonat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

6. 1,0 ccm Anilin löslich in 6,0 ccm β-Naphtalinsulfonat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O Trübung.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich in 2,5 ccm β-Naphtalinsulfonat. 0,5 ccm H_2O bewirken Trübung.

8a. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich in 2,0 ccm β-Naphtalinsulfonat. 0,5 ccm H_2O vertragen.

8b. 0,5 ccm Phenyläthylalkohol, gelöst in 2,5 ccm β-Naphtalinsulfonat, vertragen Zugabe von 2,0 ccm H_2O.

9. 1,0 ccm 3%ige Brucinchlorhydratlösung, gemischt mit 5,0 ccm β-Naphtalinsulfonat, bleibt klar auf Zugabe von 2,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH. Später erfolgt Trübung.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 8,0 ccm β-Naphtalinsulfonat. Das Gemisch verträgt Zugabe von 8,0 ccm absolutem Alkohol, doch erfolgt später Trübung.

Weiterhin wurde die Untersuchung auf die Salze von Säuren ausgedehnt, welche Derivate anderer Ringsysteme sind, und zwar wurde die Naphtensäure, die ein Abkömmling des Zyklopentans ist, die Abietinsäure und die Sylvinsäure, die vom Hydroretenring abgeleitet werden, und ferner je ein einfaches Derivat des Thiophens, Furans und Pyridins, nämlich die α-Thiophencarbonsäure, die Brenzschleimsäure und die Pikolinsäure geprüft.

XXXII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von naphtensaurem Natrium ($30^0/_0$ige Lösung).

1a. 1,0 ccm Amylalkohol, leicht löslich in 1,0 ccm Naphtenatlösung. 1,5 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O erzeugen eine Trübung, die auf Zusatz von mehr H_2O in eine Gallerte übergeht.

1b. 1,0 ccm Amylalkohol gibt mit 2,0 ccm Naphtenat eine Gallerte, die sich in der Wärme völlig klar löst.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich spielend in 2,0 ccm Naphtenat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich klar in 3,0 ccm Naphtenat. Hierzu kann H_2O beliebig hinzugesetzt werden.

4a. 0,5 ccm Zimtaldehyd lösen sich in 5,0 ccm Naphtenat auf. Beim Erhitzen wird die klare Lösung dünnflüssig wie Wasser und verträgt beliebigen Zusatz heißen Wassers.

4b. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich in 4,0 ccm warmen Naphtenats völlig klar auf. Beim Abkühlen erfolgt Trübung, in der Wärme wieder Klärung.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löst sich in 1,5 ccm Naphtenat. H_2O wird beliebig vertragen.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich beim Umschütteln leicht in 4,0 ccm Naphtenat. Beliebiger Wasserzusatz möglich.

7a. 1,0 ccm Chinolin ist leicht löslich in 1,0 ccm Naphtenat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 1,5 ccm H_2O Trübung.

7b. 1,0 ccm Chinolin löst sich schon in 0,5 ccm Naphtenat.

8a. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich leicht in 1,0 ccm Naphtenat. 3,0 ccm H_2O vertragen, 3,5 ccm H_2O Trübung.

8b. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich bereits in 0,5 ccm Naphtenat.

9. 1,0 ccm 3%ige Brucinchlorhydratlösung, gemischt mit 1,0 ccm Naphtenat, bleibt klar auf Zugabe von 1,0 ccm 15%iger NaOH.

10. 0,5 g Casein lösen sich leicht in 4,0 ccm Naphtenat. Das Gemisch verträgt die Zugabe von 4,0 ccm Amylalkohol.

XXXIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von abietinsaurem Kalium. (30%ige Lösung.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich in 4,0 ccm Abietinatlösung. Wasserzusatz beliebig möglich.

2. 1,0 ccm Essigester löslich in 4,0 ccm Abietinat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich in 4,0 ccm Abietinat. 2,0 ccm H_2O verursachen Trübung, 3,0 ccm H_2O sondern das Keton als Schicht wieder ab.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich leicht in 8,0 ccm warmer Abietinatlösung. Zusatz von heißem Wasser wird beliebig vertragen.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löst sich leicht in 2,0 ccm Abietinat. H_2O-Zusatz beliebig möglich.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich bei 40° leicht in 4,0 ccm Abietinat. 1,0 ccm kaltes H_2O trübt, während warmes Wasser beliebig hinzugesetzt werden kann.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich in 2,5 ccm Abietinat. Zu der Mischung kann beliebig H_2O gefügt werden.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich in 5,0 ccm Abietinat. Beliebiger Wasserzusatz möglich.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung, gemischt mit 2,0 ccm Abietinat, bleibt klar auf Zugabe von 1,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH. Nach einiger Zeit beginnt Krystallisation.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 8,0 ccm Abietinat. 8,0 ccm absoluter Alkohol können ohne Trübung der Mischung zugefügt werden.

XXXIV.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von sylvinsaurem Natrium. (30%ige Lösung.)

1. 1,0 cmm Amylalkohol löst sich klar in einer Mischung von 3,0 ccm Sylvinatlösung und 9,0 ccm H_2O. Wasser kann beliebig hinzugesetzt werden.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich beim Umschütteln in 2,0 ccm Sylvinat. 0,5 ccm H_2O trübt, 1,5 ccm H_2O scheiden Öl ab

3. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich in 4,0 ccm Sylvinat. 1,0 ccm H_2O trübt.

4a. 0,5 ccm Zimtaldehyd lösen sich völlig klar in 10,0 ccm Sylvinat bei gelindem Erwärmen. H_2O-Zusatz beliebig möglich.

4b. 0,5 ccm Zimtaldehyd lösen sich in 6,0 ccm heißer Sylvinatlösung. 5,0 ccm heißes H_2O vertragen, mehr heißes oder kaltes H_2O trübt.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löst sich klar in einer Mischung von 4,0 ccm Sylvinat + 2,0 ccm H_2O. 2,0 ccm H_2O vertragen, 4,0 ccm H_2O erzeugen eine gelinde Trübung, die beim Erwärmen dicker wird.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich in 5,0 ccm Sylvinat beim Erwärmen. 5,0 ccm H_2O werden vertragen, 7,0 ccm H_2O bewirken Trübung, die in der Hitze noch zunimmt.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich beim Erwärmen in einem Gemisch von 5,0 ccm Sylvinat und 5,0 ccm H_2O. Beim Abkühlen stellt sich Trübung ein, die durch Zugabe von 5,0 ccm kaltem H_2O beseitigt werden kann. Bei 100° erfolgt eine Trübung, die beim Abkühlen wieder verschwindet. Ein Zusatz von weiteren 15,0 ccm kaltem H_2O wird vertragen, nimmt man aber 20,0 ccm kaltes H_2O, so erfolgt wiederum Trübung, die beim Erwärmen immer stärker wird.

8. 0,5 ccm Phenyläthylalkohol lösen sich in der Kälte in einem Gemisch von 1,5 ccm Sylvinat und 6,0 ccm H_2O. In der Hitze erfolgt Trübung, die beim Abkühlen wieder verschwindet. 5,0 ccm kaltes H_2O werden vertragen, während 10,0 ccm H_2O eine Trübung verursachen, die beim Erwärmen zunimmt.

9. 1,0 ccm $3^0/_0$ige HCl-Brucinlösung gibt mit 2,0 ccm Sylvinat die oftmals beobachtete vorübergehende Trübung. Die Mischung verträgt 1,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 8,0 ccm Sylvinat. 6,0 ccm Äthylalkohol werden zunächst vertragen, später erfolgt Trübung.

Das naphtensaure, abietinsaure und sylvinsaure Alkali zeigen außerordentlich merkwürdige Lösungserscheinungen. Die Hydrotropie dieser natürlich vorkommenden Verbindungen ist zumeist sehr ausgeprägt und scheint daher beachtenswert. Über das Verhalten anderer hydroaromatischer Verbindungen wird noch berichtet werden.

XXXV.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von α-thiophencarbonsaurem Kalium. (4 n-Lösung.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol wird gelöst von 1,0 ccm α-Thiophenatlösung. 2,0 ccm H_2O bewirken Trübung.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich in 9,0 ccm α-Thiophenat. Wasserzusatz beliebig möglich.

3. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich in 5,0 ccm α-Thiophenat. H_2O beliebig vertragen.

4. 0,1 ccm Zimtaldehyd löslich in 9,0 ccm α-Thiophenat. H_2O trübt.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löst sich in 1,0 ccm α-Thiophenat. 1,0 ccm H_2O trübt.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich in 6,0 ccm α-Thiophenat. 1,0 ccm H_2O trübt.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich leicht in 1,0 ccm α-Thiophenat. 1,0 ccm H_2O trübt.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol ist vollkommen mischbar mit 1,0 ccm α-Thiophenat. 1,0 ccm H_2O bewirkt Trübung.

9. 1,0 ccm $3\,^0/_0$ige HCl-Brucinlösung mischt sich glatt mit 1,0 ccm α-Thiophenat. 1,0 ccm $15\,^0/_0$ige NaOH vertragen.

10. 0,5 g Casein leicht löslich in 4,0 ccm α-Thiophenat. Die Mischung ist kochbeständig und verträgt den Zusatz des gleichen Volumens Alkohol.

XXXVI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von brenzschleimsaurem Kalium. (4 n-Lösung.)

Manche Verbindungen sind in der Lösung des brenzschleimsauren Salzes schwer löslich, z. B. Amylalkohol, Essigester, Zimtaldehyd. Andere werden jedoch leicht aufgenommen.

1. 0,5 ccm Zyklohexanon lösen sich in 2,0 ccm Pyromucatlösung. H_2O beliebig vertragen.

2. 0,5 ccm Chinolin brauchen zur Lösung 6,0 ccm Pyromucat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt.

3. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich in 1,0 ccm Pyromucat. 0,5 ccm H_2O vertragen.

4. 1,0 ccm $3\,^0/_0$iges HCl-Brucin, gemischt mit 2,0 ccm Pyromucat, verträgt ohne Trübung den Zusatz von 1,0 ccm $15\,^0/_0$iger NaOH.

XXXVII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von pikolinsaurem Kalium. ($40\,^0/_0$ige Lösung.)

Die unter 1. bis 8. zumeist geprüften Substanzen sind schwer oder nicht löslich. Casein ist nicht versucht. Möglich ist die Lösung von Alkaloiden.

1,0 ccm $3\,^0/_0$ige HCl-Brucinlösung, gemischt mit 2,0 ccm Pikolinatlösung, bleibt klar auf Zugabe von 1,0 ccm $15\,^0/_0$iger NaOH. Nach 40 Minuten beginnt jedoch das Alkaloid aus der Lösung auszufallen.

Die in den vorangegangenen Erörterungen angeführte Tatsache, daß die bei der Eiweißfäulnis aus den Aminosäuren durch Desaminierung oder durch Kohlenstoffkettenverkürzung

hervorgehenden gesättigten Säuren mit kräftigerer Hydrotropie ausgestattet sind, war Veranlassung, auch die Salze einiger fett-aromatischer Säuren zu prüfen; denn zu ihnen gehören die Fäulnisfettsäuren Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure (Hydrozimtsäure). Im Anschlusse an diese wurde noch eine ungesättigte Säure dieser Reihe, die β-Phenylacrylsäure (Zimtsäure) und eine Oxysäure, die Phenylglykolsäure (Mandelsäure), letztere auch in einer optisch aktiven Form, untersucht.

XXXVIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von phenylessigsaurem Natrium. (40 g Salz mit Wasser gelöst zu 80 ccm.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich leicht in 1,0 ccm Phenylacetatlösung. 1,0 ccm H_2O vertragen, 1,5 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich klar in 4,0 ccm Phenylacetat. Wasserzusatz beliebig möglich.

3. 0,5 ccm Diäthylketon lösen sich beim Umschütteln in 4,0 ccm Phenylacetat. Beliebiger Wasserzusatz möglich.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd lösen sich bei kurzem Umschütteln in 4,0 ccm Phenylacetat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O trüben.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 1,0 ccm Phenylacetat. 0,75 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

6. 1,0 ccm Anilin leicht löslich in 3,0 ccm Phenylacetat. 0,5 ccm H_2O vertragen, 1,0 ccm H_2O Trübung.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 0,5 ccm Phenylacetat. Nimmt man 1,0 ccm Phenylacetat, so wird 1,0 ccm H_2O vertragen, während 1,5 ccm H_2O trüben.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol leicht löslich in 1,0 ccm Phenylacetat. 1,5 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O Trübung.

9. 1,0 ccm 3 %ige HCl-Brucinlösung bleibt völlig klar auf Zugabe von 1,0 ccm Phenylacetat und 1,0 ccm 15 %iger NaOH.

10. 1,0 g Casein leicht löslich in 4,0 ccm Phenylacetat. 4,0 ccm Amylalkohol sind mit der Lösung mischbar.

XXXIX.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von phenylpropionsaurem Kalium. (20 g Salz in 40 ccm H_2O.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löslich in 1,0 ccm Phenylpropionatlösung. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm Essigester löslich in 3,0 ccm Phenylpropionat. H_2O wird beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löslich in 9,0 ccm Phenylpropionat. H_2O beliebig vertragen.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd löslich in 9,0 ccm Phenylpropionat. 2,0 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O scheidet Zimtaldehyd in öligen Tropfen ab.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 1,0 ccm Phenylpropionat. 1,0 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O trüben, mehr H_2O fällt.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich beim Umschütteln klar in 2,0 ccm Phenylpropionat. 0,75 ccm H_2O vertragen, mehr H_2O fällt Anilin als Öl.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 2,0 ccm Phenylpropionat. 5,0 ccm H_2O vertragen, 6,0 ccm H_2O Trübung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol mischbar mit 1,0 ccm Phenylpropionat. 2,0 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm 3 %ige HCl-Brucinlösung klar mischbar mit 1,0 ccm Phenylpropionat. 1,0 ccm 15 %ige NaOH vertragen.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 4,0 ccm Phenylpropionat auf. Der Mischung kann das gleiche Volumen Amylalkohol zugesetzt werden.

XL.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von zimtsaurem Natrium. (20 g Salz gelöst mit Wasser zu 130 ccm; die Lösung ist 40° warm benutzt und dann mit dem Substrat abgekühlt worden.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich in 2,0 ccm Cinnamatlösung. 0,5 g H_2O vertragen.

2. 1,0 ccm Essigester löslich in 7,0 ccm Cinnamat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löslich in 10,0 ccm Cinnamat. H_2O beliebig vertragen.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd werden von 15,0 ccm Cinnamat nicht vollständig, aber stark gelöst.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löslich in 3,0 ccm Cinnamat. 2,0 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O scheiden Öl aus.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich in 7,0 ccm Cinnamat. 3,0 ccm H_2O können hinzugegeben werden, während 4,0 ccm H_2O trüben.

7. 1,0 ccm Chinolin löst sich in 1,5 ccm Cinnamat. 0,5 ccm H_2O bewirkt Trübung.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol ist leicht löslich in 1,0 ccm Cinnamat. 0,5 ccm H_2O trüben.

9. Der Versuch mit Brucinchlorhydrat und Lauge ist nicht ausführbar, da die konzentrierte Cinnamatlösung durch NaOH oder KOH gefällt wird.

10. 0,5 g Casein lösen sich glatt in 4,0 ccm Cinnamat. Die Mischung verträgt den Zusatz von 4,0 ccm Alkohol.

XLI.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von mandelsaurem Kalium. (15,2 g Säure neutralisiert mit KOH und aufgefüllt mit H_2O zu 40 ccm.)

1. 1,0 ccm Amylalkohol löslich in 1,0 ccm Amygdalatlösung. 0,5 ccm H_2O trüben.

2. 0,5 ccm Essigester löslich in 2,5 ccm Amygdalat. H_2O beliebig.

3. 0,5 ccm Diäthylketon löslich in einem Gemisch von 5,0 ccm Amygdalat und 0,25 ccm H_2O. Dann wird H_2O beliebig vertragen.

4. 0,5 ccm Zimtaldehyd werden fast völlig gelöst von 8,0 ccm Amygdalat. H_2O trübt stark milchig.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löst sich in 2,0 ccm Amygdalat. 0,5 ccm H_2O vertragen.

6. 0,5 ccm Anilin lösen sich klar in 3,0 ccm Amygdalat. 0,5 ccm H_2O werden vertragen, 1,0 ccm H_2O trübt. Läßt man die Lösung des Anilins im Amygdalat einige Zeit stehen, so erstarrt sie zu einer festen Krystallmasse.

7. 1,0 ccm Chinolin leicht löslich in 1,0 ccm Amygdalat. 1,0 ccm H_2O trübt.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich leicht in 1,0 ccm Amygdalat. 1,0 ccm H_2O trübt.

9. 1,0 ccm 3%iges HCl-Brucin mischt sich klar mit 2,0 ccm Amygdalat und verträgt den Zusatz von 1,0 ccm 15%iger NaOH.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 4,0 ccm Amygdalat, und dieser Mischung kann das gleiche Volumen Äthylalkohol hinzugefügt werden. Auch mit optisch aktivem mandelsaurem Kalium, und zwar mit dem Salz der l-Säure, wurden Stichproben angestellt. Wie zu erwarten war, ist die Hydrotropie bei der linksdrehenden Verbindung ebenso vorhanden wie bei der Racemform.

Die fettaromatischen Säuren stehen in vieler Hinsicht in der Mitte zwischen den ringförmigen Gebilden und den Körpern mit offener Kohlenstoffkette. Die Versuche mit Salzen aliphatischer Säuren, die sich daraus ergeben haben, sollen den Gegenstand einer besonderen Mitteilung bilden. Nur über

2 Verbindungen soll schon jetzt gewissermaßen wie über 2 Typen berichtet werden, und zwar über das Verhalten von valeriansaurem und amylschwefelsaurem Salz.

XLII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von isovaleriansaurem Kalium. (40%ige Lösung.)

Dieses Salz aus käuflicher Isovaleriansäure war ein Gemisch von wirklicher Isovaleriansäure mit dem Salz der natürlichen rechtsdrehenden Methyläthylessigsäure.

1. 1,0 ccm Amylalkohol leicht löslich in 0,5 ccm Isovalerianatlösung. 0,5 ccm H_2O bewirken völlige Schichtenbildung.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich beim Schütteln in 8,0 ccm Isovalerianat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich in 12,0 ccm Isovalerianat nicht völlig.

4. 1,0 ccm Zimtaldehyd ist in der Wärme völlig löslich in 60 ccm Isovalerianat. H_2O trübt stark milchig.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon löst sich in 4 ccm Isovalerianat. 0,5 ccm H_2O trüben, mehr H_2O fällt Öl aus.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich in 12,0 ccm Isovalerianat bei gelindem Erwärmen oder in 16,0 ccm Isovalerianat in der Kälte. H_2O trübt.

7. 1,0 ccm Chinolin löslich in 4,0 ccm Isovalerianat. 0,5 ccm H_2O scheiden die Base in Öltropfen ab.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löst sich bereits in 0,5 ccm Isovalerianat. 0,5 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm 3%ige HCl-Brucinlösung, gemischt mit 2,0 ccm Isovalerianat, gibt mit 1,0 ccm 15%iger NaOH zunächst eine klare Lösung. Nach 5 Minuten fängt jedoch das Alkaloid an auszukrystallisieren.

10. 0,5 g Casein lösen sich in 4,0 ccm Isovalerianat. Das Gemisch verträgt den Zusatz von 4,0 ccm abs. Äthylalkohol.

XLIII.

Hydrotropische Wirkungen der wäßrigen Lösung von amylschwefelsaurem Natrium. (50%ige Lösung.)

Dieses Salz, das aus Gärungsamylalkohol bereitet wird, ist ein Gemisch der ätherschwefelsauren Salze von optisch inaktivem Isobutylcarbinol und linksdrehendem Amylalkohol.

1. 1,0 ccm Amylalkohol löst sich spielend in 0,5 ccm Amylsulfatlösung. Nimmt man 1,0 ccm Amylsulfat, so werden 2,5 ccm H_2O vertragen, während 3,0 ccm H_2O trüben.

2. 1,0 ccm Essigester löst sich leicht in 3,5 ccm Amylsulfat. H_2O beliebig vertragen.

3. 1,0 ccm Diäthylketon löst sich in 3,5 ccm Amylsulfat. Zusatz von 3,0 ccm H_2O zulässig, 4,0 ccm H_2O trüben, 5,0 ccm H_2O bewirken Ölabscheidung.

4a. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich völlig in 5,0 ccm Amylsulfat beim Anwärmen. Beim Abkühlen erfolgt Trübung, ebenso durch Wasserzusatz.

4b. 1,0 ccm Zimtaldehyd löst sich ganz klar in 10,0 ccm kaltem Amylsulfat. 2,0 ccm H_2O werden vertragen, während 3,0 ccm H_2O eine milchige Trübung hervorrufen, die beim Erwärmen wieder verschwindet.

5. 1,0 ccm Zyklohexanon ist äußerst leicht löslich in 1,0 ccm Amylsulfat. 2,0 ccm H_2O vertragen, 3,0 ccm H_2O Trübung.

6. 1,0 ccm Anilin löst sich spielend in 1,0 ccm Amylsulfat 0,5 ccm H_2O trüben.

7. 1,0 ccm Chinolin glatt löslich in 1,0 ccm Amylsulfat. 1,5 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O trüben.

8. 1,0 ccm Phenyläthylalkohol löslich in 1,0 ccm Amylsulfat. 1,5 ccm H_2O vertragen, 2,0 ccm H_2O trüben.

9. 1,0 ccm 3%ige Brucinchlorhydratlösung ist klar mischbar mit 1,0 ccm Amylsulfat. Das Gemisch verträgt den Zusatz von 1,0 ccm 15%iger NaOH.

10. 0,5 g Casein löslich in 4,0 ccm Amylsulfat. Das Gemisch kann ohne Trübung mit 4,0 ccm Amylalkohol versetzt werden.

Mehrfach konnte hervorgehoben werden, daß außer einheitlichen chemischen Individuen auch in der Natur vorkommende Substanzgemische durch Hydrotropie beeinflußt werden, so die Milch und der Hefemacerationssaft. Einige besondere Angaben sollen folgen über das

Verhalten von Blutserum, Gelatine und von Eigelbemulsion.

Das verwendete

Blutserum

stammte vom Hammel und zeigte folgendes.

A.

Verhalten zu 50%igem Natriumbenzoat.

1. 2,0 ccm Hammelserum + 0,2 ccm Natriumbenzoat koagulieren beim Erhitzen.

2. 2,0 ccm Hammelserum + 0,5 ccm Natriumbenzoat geben beim Erhitzen eine anfangs klare, später vollständig gelatinierende Flüssigkeit.

3. 2,0 ccm Hammelserum + 1,0 ccm Natriumbenzoat geben beim Erhitzen eine beständige klare Lösung, die auch bei Verwendung von trübem Hammelserum so klar ist, daß sie polarisiert werden kann.

B.

Verhalten zu 4n-salicylsaurem Natrium.

1. 2,0 ccm Hammelserum + 0,1 ccm Salicylat geben beim Erhitzen eine trübe Gallerte, aber kein eigentliches Koagulum denn sie preßt kein Wasser aus.

2. 2,0 ccm Hammelserum + 0,2 ccm Salicylat geben beim Erhitzen eine anfangs klare Flüssigkeit, die dann zu einer gelatineartigen Gallerte erstarrt. Auch hier ist die Gelbildung so vollständig, daß die Gallerte aus dem umgekehrten Röhrchen nicht ausläuft.

3. 2,0 ccm Hammelserum + 0,5 ccm Salicylat liefern beim Kochen eine klar bleibende Flüssigkeit. Bei längerem Stehen tritt auch hier die Bildung einer durchscheinenden Gallerte ein.

C.

Verhalten zu hippursaurem Natrium. (50 %ige Lösung.)

1. 2,0 ccm Hammelserum + 0,2 ccm Hippurat koagulieren in der Hitze.

2. 2,0 ccm Hammelserum + 0,5 ccm Hippurat gestehen in der Hitze zu einer trüben Gallerte.

3. 2,0 ccm Hammelserum + 1,0 ccm Hippurat liefern nach dem Erhitzen eine klare, später sich trübende Gallerte.

4. 2,0 ccm Hammelserum + 2,0 ccm Hippurat bleiben in der Hitze klar.

D.

Verhalten zu m-toluylsaurem Kalium. (18 %ige Lösung.)

1. 2,0 ccm Hammelserum + 0,2 ccm m-Toluylat koagulieren beim Erhitzen.

2. 2,0 ccm Hammelserum + 0,5 ccm m-Toluylat: Nach dem Erhitzen und darauffolgender Abkühlung entsteht eine Gallerte.

3. 2,0 ccm Hammelserum + 1,0 ccm m-Toluylat liefern beim Erwärmen eine klare Flüssigkeit, die erst nach einigem Stehen zu einem durchsichtigen Gel erstarrt.

Ebenso verhält sich menschliches Serum, auch nach vorausgegangener Inaktivierung bei 56°. Koagulierte Serumproteine und andere Eiweißkörper gehen ebenfalls mehr oder minder schnell in Lösung.

Verhalten von Gelatine.

Ähnlich wie die gerinnenden Eiweißkörper ihre Koagulierbarkeit unter dem Einfluß hydrotropischer Salze verlieren, büßt die Gelatine ihr Erstarrungsvermögen ein.

Erwärmt man 1,0 g zerschnittene Handelsgelatine mit 10,0 ccm heißem Wasser 10 Minuten im Wasserbade, so gelatiniert die erhaltene Lösung nach etwa $^1/_4$ Stunde bei Zimmertemperatur.

Scheinbar leichter als in Wasser geht je 1,0 g Gelatine in 10,0 ccm Benzoat-, Salicylat-, Isovalerianat- und Amylsulfatlösung über. Auch bei mehrtägigem Stehen in der Kälte er-

starren diese Lösungen nicht mehr. Sie bleiben klar und tropfbar flüssig, sie haben die Konsistenz des wasserfreien Glycerins; mit Wasser sind diese Gelatinelösungen mischbar.

Verhalten von Eigelbemulsion.

Zu den Versuchen diente frisches Gelbei im Gewichte von 15 g, das mit 30 ccm Wasser zu einer gleichmäßigen Suspension verrührt, aber nicht filtriert war.

Es erfolgt eine Aufhellung schon in der Kälte und nahezu völlige Klärung in der Hitze beim Zusammenbringen von:

1. 2,0 ccm Eigelb mit 0,5 ccm Phenolat[1]).
2. 2,0 ccm Eigelb mit 2,0 ccm Benzoat.
3. 2,0 ccm Eigelb mit 1,0 ccm Salicylat.
4. 2,0 ccm Eigelb mit 2,0 ccm o-Kresotinat.
5. 2,0 ccm Eigelb mit 2,0 ccm α-Oxynaphthoat.
6. 2,0 ccm Eigelb mit 2,0 ccm β-Oxynaphthoat.

Es braucht nicht mehr hervorgehoben zu werden, daß mit der Aufhellung auch eine Aufhebung der Gerinnbarkeit einhergeht. Das natürliche Eigelb verdankt seine Trübung nicht nur dem vorhandenen Albumin, sondern hauptsächlich dem Lecithin. Besondere Versuche haben gezeigt, daß dieses Lipoid von fast allen hydrotropischen Salzlösungen leicht und vielfach völlig klar gelöst wird.

Einige Versuche über die Löslichkeit von Harnsäure in hydrotropisch wirkenden Salzen:

1. Die Suspension von 0,1 g Harnsäure in 10,0 ccm 50⁰/₀igem Natriumbenzoat (Konzentration wie zuvor) + 10,0 ccm H_2O wird beim Erwärmen plötzlich klar. Setzt man dann sofort 20 ccm Eiswasser hinzu, so bleibt die Mischung einige Zeit lang klar.

2. Das Gemisch von 0,1 g Harnsäure, 10,0 ccm 40⁰/₀igem Natriumbenzoat + 40,0 ccm H_2O klärt sich beim Erwärmen und bleibt nach dem Einstellen in Eis 1 Stunde lang klar. Versuch 2 gelingt besser als Nr. 1.

---

[1]) Die Konzentration der hier verwendeten Lösungen ist die zuvor angegebene.

3. 0,1 g Harnsäure, die in 20,0 ccm 50 $^0/_0$ igem hippursaurem Natrium und 20,0 ccm H_2O suspendiert ist, wird beim Erhitzen klar gelöst. Durch viel Alkohol wird ein weißer Niederschlag ausgefällt.

4. 0,05 g Harnsäure lösen sich in dem angewärmten Gemisch von 15,0 ccm 50 $^0/_0$ igem valeriansaurem Kalium + 15,0 ccm H_2O klar auf. Die Lösung trübt sich jedoch bald.

5. 0,1 g Harnsäure löst sich bei gelindem Erwärmen in einem Gemisch von 5,0 ccm H_2O und 5,0 ccm 40 $^0/_0$ igem Kaliumamygdalat.

6. 0,1 g Harnsäure löst sich auf Zusatz von 10,0 ccm phenylessigsaurem Natrium (50 $^0/_0$ ig) + 10,0 ccm H_2O bei gelindem Erwärmen klar auf; bald erfolgt Trübung, doch kann dieselbe durch Wasserzusatz erheblich verzögert werden.

7. Kontrolle: 0,1 g Harnsäure wird beim Erwärmen mit 60,0 ccm H_2O nicht sichtbar gelöst.

Das Lösungsvermögen der hydrotropischen Salze erstreckt sich auch auf einige anorganische Verbindungen, worüber vorläufig nachstehende Angaben gemacht werden sollen. Sie betreffen die

Auflösung von Calciumcarbonat, Magnesiumcarbonat und Magnesiumphosphat in hydrotropisch wirkenden Salzlösungen. Diese anorganischen Salze kommen auch in den Säften und Ausscheidungen der Organismen vor, in ersteren gelöst, in letzteren zum Teil in fester Form und geben gelegentlich — bei Störungen der normalen Lösungsverhältnisse — ähnlich wie das Cholesterin zu pathologischen Steinbildungen Anlaß.

1. Versetzt man 5,0 ccm einer 45 $^0/_0$ igen Benzoatlösung mit 0,2 ccm m-$MgSO_4$ und 0,2 ccm m-Na_2CO_3, so erhält man eine klare Lösung. Dieselbe trübt sich beim Erhitzen durch Ausscheidung von $MgCO_3$, das sich nach dem Abkühlen und Stehen jedoch wieder löst.

2. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 0,2 ccm m-$MgSO_4$ + 0,2 ccm m-Na_2CO_3: sofortiger Niederschlag.

3. 2,0 ccm Benzoat + 2,0 ccm $^{m}/_{10}$-$MgSO_4$ + 2,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2CO_3: völlig klare Lösung, die sich beim Erwärmen trübt und in der Kälte wieder klar wird.

4. Kontrolle: 2,0 ccm H_2O + 2,0 ccm $^{m}/_{10}$-$MgSO_4$ + 2,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2CO_3: schnell zunehmende Trübung, dann Fällung.

5. 5,0 ccm Benzoat + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-$CaCl_2$ + 0,1 ccm m-Na_2CO_3. Das Gemisch bleibt in der Hitze vollkommen klar. In der Kälte krystallisiert Calciumbenzoat, jedoch kein Calciumcarbonat, aus. In der Wärme erfolgt stets wieder klare Lösung.

6. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-$CaCl_2$ + 0,1 ccm m-Na_2CO_3: es entsteht sofort ein Niederschlag von kohlensaurem Calcium.

7. 5,0 ccm Benzoat + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-$CaCl_2$ + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2CO_3. Auch diese Lösung bleibt in der Hitze völlig klar, während in der Kälte Calciumbenzoat ausfällt, das sich beim Erwärmen restlos löst.

8. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-$CaCl_2$ + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2CO_3: sofortige Fällung von $CaCO_3$.

Man setzt bei Anstellung dieser Versuche besser zunächst die Sodalösung und dann das Chlorcalcium zur Benzoatlösung, da sonst das Calciumbenzoat leicht auskrystallisiert.

9. Versetzt man 5,0 ccm Benzoatlösung mit 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-$MgSO_4$ + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2HPO_4 + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2CO_3, so resultiert eine klare Flüssigkeit, die sich in der Hitze trübt, beim Abkühlen aber wieder aufhellt. Sie bleibt 24 Stunden klar.

10. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-$MgSO_4$ + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2HPO_4 + 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2CO_3. Es entsteht sofort ein Niederschlag von Magnesiumphosphat.

11. 2,0 ccm 4n-Salicylat gemischt mit 2,0 ccm $^{m}/_{10}$-$MgSO_4$ bleiben klar auf Zugabe von 2,0 ccm $^{m}/_{10}$-Na_2CO_3. Auch beim Erhitzen sowie bei 24stündigem Stehen fällt kein $MgCO_3$ nieder.

12. 5,0 ccm Salicylat + 2,0 ccm m-$MgSO_4$ + 2,0 ccm m-Na_2CO_3. Die Flüssigkeit bleibt in der Kälte, selbst nach

24stündigem Stehen klar. Beim Erhitzen fällt schleimiges $MgCO_3$ als dicke Gallerte aus, die sich in der Kälte nach einiger Zeit wieder vollständig löst.

13. 5,0 ccm Salicylat + 1,0 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$ + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Na_2CO_3 geben eine klare Lösung, die sich bei 24stündigem Stehen schwach und beim Erhitzen stärker trübt.

14. 5,0 ccm Salicylat + 1,0 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Na_2HPO_4 + 0,1 ccm n-NH_3 liefern eine völlig klare Lösung, die sich beim Sieden trübt, sonst aber stundenlang beständig ist.

15. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 1,0 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Na_2HPO_4 + 0,1 ccm m-NH_3 geben sofort eine dicke Fällung von Ammoniummagnesiumphosphat.

16. 2,0 ccm 50%iges isovaleriansaures Kalium + 2,0 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ + 2,0 ccm $^m/_{10}$-Na_2CO_3. Es resultiert eine klare Lösung, die bei 24stündigem Stehen unverändert bleibt. In der Hitze erfolgt flockige Fällung, die sich beim Abkühlen wieder löst.

17. 5,0 ccm Isovalerianat + 1,0 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$ + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Na_2CO_3. Die Flüssigkeit bleibt in der Hitze wie in der Kälte völlig klar und hat auch nach 24 Stunden noch kein $CaCO_3$ abgeschieden.

18. Frisch gefälltes $CaCO_3$, hergestellt durch Mischen von 1,0 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$ + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Na_2CO_3, löst sich in 5,0 ccm Isovalerianatlösung beim Umschütteln in der Kälte klar auf.

19. 5,0 ccm Isovalerianat geben nach Zugabe von 1,5 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Na_2HPO_4 + 1,5 ccm $^m/_{10}$-Na_2CO_3 eine klare Lösung, die sich in der Siedehitze trübt, beim Abkühlen aber wieder fast vollständig klärt. Innerhalb 24 Stunden entsteht in geringer Menge ein krystallinischer Niederschlag.

An das Verhalten der anorganischen Kalk- und Magnesiumsalze schließt sich an die Lösungsfähigkeit der Kalk- und Magnesiaseifen in hydrotropischen Salzlösungen.

Auch diese in Wasser nahezu unlöslichen, im Organismus stets vorhandenen Stoffe können in Lösung gebracht werden.

20. Mischt man 5,0 ccm Salicylat mit 1,0 ccm $^m/_{10}$-oleinsaurem Kalium, so scheidet sich infolge Aussalzung eine krystallinische Alkaliverbindung aus, die beim Anwärmen wieder in Lösung geht. Auf Zugabe von 0,5 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ entsteht eine bei 40° klare Lösung.

21. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Kaliumoleinat geben auf Zusatz von 0,5 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ eine flockige weiße Fällung.

22. 5,0 ccm Salicylat + 2,0 ccm $^m/_{10}$-Kaliumoleinat + 1,0 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_2$ geben beim Erwärmen eine nahe klare Lösung.

23. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 2,0 ccm $^m/_{10}$-Kaliumoleinat + 1,0 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$: kräftiger weißer Niederschlag.

24. 5,0 ccm Salicylat mischen sich in der Wärme klar mit 1,0 ccm $^m/_{10}$-Oleinat. Auf Zugabe von 0,5 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$ bleibt das Gemisch klar.

25. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Oleinat + 0,5 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$: kräftiger Niederschlag.

26. 5,0 ccm Salicylat können in der Hitze gemischt werden mit 2,0 ccm $^m/_{10}$-Oleinat. Nach Zugabe von 1,0 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$ minimale Trübung.

27. Kontrolle: 5,0 ccm H_2O + 2,0 ccm $^m/_{10}$-Oleinat + 1,0 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$: Ausfall von viel Kalkseife.

28. 5,0 ccm Benzoat scheiden auf Zusatz von 1,0 ccm $^m/_{10}$-Oleinat in der Kälte — durch Aussalzung — ein Alkalisalz aus, das sich in der Wärme löst. Die warme Lösung verträgt Zugabe von 0,5 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$, ohne daß Magnesiaseife ausgeschieden wird.

29. 5,0 ccm Benzoat, die sich in der Wärme klar mischen mit 2,0 ccm $^m/_{10}$-Oleinat, liefern auf Zusatz von 1,0 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ den Hauch einer Trübung.

30. 5,0 ccm Benzoat, in der Hitze klar mischbar mit 1,0 ccm $^m/_{10}$-Oleinat, bleiben fast klar auf Zusatz von 0,5 ccm $^m/_{10}$-$CaCl_2$.

31. 5,0 ccm isovaleriansaures Kalium zeigen auf Zugabe von 1,0 ccm $^m/_{10}$-Kaliumoleinat eine leichte Aussalzerschei-

nung. Beim Erwärmen erfolgt klare Mischung, und diese verträgt ohne Trübung die Zugabe von 0,5 ccm $^{m}/_{10}$-$MgSO_4$.

32. 5,0 ccm Isovalerianat sind in der Wärme klar mischbar mit 1,0 ccm $^{m}/_{10}$-Kaliumoleinat. Die Mischung bleibt klar auf Zugabe von 0,5 ccm $^{m}/_{10}$-$CaCl_2$.

Die Versuche 31 und 32 zeigen eine sehr interessante Beeinflussung der Löslichkeit von Kalk- und Magnesiaseife durch das Alkalisalz einer niedrigen Fettsäure.

Ganz ähnlich wie das Kalk- und Magnesiasalz der Ölsäure verhalten sich die entsprechenden Verbindungen der Palmitinsäure.

Einige Versuche über die Lösung von Stärke in hydrotropischen Salzen.

1. Verteilt man 1 g gewöhnliche (nicht lösliche) Stärke in 10,0 ccm 45 %iger Benzoatlösung und läßt das Gemisch bei Zimmertemperatur stehen, so beobachtet man, daß nach 12 Stunden in der Kälte eine Verkleisterung eingetreten ist. Erwärmt man das Gemisch, so kann man in kurzer Zeit den Übergang in eine durchsichtige Gallerte beobachten, während eine 10 %ige wäßrige Stärkesuspension in der Kälte pulverige Stärke am Boden des Gefäßes absetzt und beim Erwärmen im Wasserbade den bekannten trüben Kleister liefert.

2. Das Gemisch von 1,0 g Stärke + 10 ccm Salicylat klärt sich bei 12 stündigem Stehen durch Verkleisterung in der Kälte. Beim Erwärmen auf dem Wasserbade erhält man ebenfalls ein durchsichtiges Gel.

3. 1,0 g Stärke + 10,0 ccm 50 %ige Lösung von isovaleriansaurem Kalium verändern sich in der Kälte nur wenig, während sich in der Wärme eine durchsichtige Gallerte bildet.

4. und 5. Gleichfalls in der Hitze werden zu einem durchscheinenden Gel verkleistert die Suspensionen von: 1,0 g Stärke in 10,0 ccm 50 %igem amylschwefelsaurem Natrium oder 10,0 ccm β-oxynaphtoesaurem Natrium.

Die Wirkungen der hydrotropischen Salze auf die Stärke bestehen also darin, daß entweder schon in der Kälte Ver-

kleisterung eintritt oder in der Wärme eine transparente gelatineähnliche Masse entsteht, und zwar bei Konzentrationen, in denen rein wäßrige Stärkeemulsionen sich nicht verändern oder nur den bekannten trüben milchweißen Kleister liefern.

Über die Löslichkeit einiger Arzneimittel in hydrotropischen Salzlösungen.

Nach Bestimmungen, deren Ausführung ich teilweise Herrn Dr. E. Kolshorn verdanke, ergab sich folgendes:

Phenacetin (p-Acetaminophenetol, C_2H_5O-C_6H_4-$NHCOCH_3$), das in Wasser von 15^0 nur zu 0,07 $^0/_0$ löslich ist, kann in einer Lösung von benzolsulfosaurem Natrium (200 g zum Volumen 500 ccm mit Wasser gelöst) zu 1 $^0/_0$ und in einer Lösung von toluolsulfosaurem Natrium (200 g auf Volumen 500 ccm mit Wasser gelöst) zu 1,5 $^0/_0$ gelöst werden.

Durch die hydrotropische Wirkung einer Lösung von 4 n-Natriumsalicylat oder von 40 $^0/_0$igem Natriumbenzoat wird die Lösbarkeit von Antifebrin (Acetanilid) von 0,4 $^0/_0$ in reinem Wasser auf 2 $^0/_0$, in einer Lösung von toluolsulfosaurem Natrium (wie oben) auf 3 $^0/_0$ erhöht.

Anästhesin (p-Aminobenzoesäureäthylester) löst sich in Wasser bei 15^0 zu ca. 0,2 $^0/_0$, dagegen in Lösungen von Natriumsalicylat, Natriumbenzoat (wie oben) zu 2 $^0/_0$, in toluolsulfosaurem Natrium (wie oben) zu 2,5 $^0/_0$ und in amylschwefelsaurem Natrium (100 g Salz in 200 ccm Wasser) zu 3 $^0/_0$.

Die Löslichkeit von Pyramidon (Dimethylaminoantipyrin) kann in einer Lösung von Natriumbenzoat (wie oben) auf das 7fache der Löslichkeit in Wasser (35 $^0/_0$: 5 $^0/_0$) erhöht werden.

Während sich Veronal (Diäthylmalonylharnstoff) in Wasser von 15^0 zu höchstens 0,5 $^0/_0$ löst, nimmt eine Lösung von toluolsulfosaurem Natrium (wie oben) oder benzolsulfosaurem Natrium (wie oben) oder hippursaurem Natrium (33 $^0/_0$ig) 2,5 $^0/_0$ auf.

Salipyrin (Phenyldimethylpyrazolonsalicylat) zeigt in Wasser bei 15^0 eine Löslichkeit von 0,4 $^0/_0$. Lösungen von Natriumsalicylat (wie oben) und Natriumbenzoat (wie oben) halten bei gleicher Temperatur 30 $^0/_0$ in Lösung, Amylsulfat (wie oben) ca. 18 $^0/_0$.

Chinin, dessen Löslichkeit in Wasser geringer als 0,05 % ist, wird von 50 %igem Natriumsalicylat oder 40 %igem Natriumbenzoat zu 3 %, also 60mal stärker, gelöst.

Eine 100fache Erhöhung der Löslichkeit durch hydrotropische Wirkung kann beim Sulfonal $(CH_3)_2C(SO_2C_2H_5)_2$ erreicht werden, welches in Wasser nur zu 0,2 % löslich ist, dagegen von Natriumsalicylat- und Natriumbenzoatlösung (wie oben) zu 20 % bei 15° in Lösung gehalten wird.

Die erwähnten Beispiele zeigen, daß die „hydrotropische Löslichkeit" 7 bis 100 mal so groß sein kann wie die in reinem Wasser. Auch in anderen Fällen ist eine Nutzanwendung des Hydrotropieprinzipes möglich.

Zur Methodik der Ammoniakbestimmung des menschlichen Harnes; vergleichende Bestimmungen mit den Apparaten Schlösings, Krüger-Reich-Schittenhelms und Hahns[1]).

Von

Ch. Schenitzky.

(Aus dem Prager Handelsspitale. [Vorstand: Prof. Dr. E. Münzer.])

(Eingegangen am 23. April 1916.)

Mit 3 Tabellen und 1 Figur im Text.

Die quantitative Bestimmung des Ammoniaks im Harne ist von großem klinischen Interesse. Ist ja Ammoniak, wie Münzer[2]) und Hallervorden[3]) sich ausgedrückt haben, der Säureindikator des Stoffwechsels. Diese Bedeutung wird dem Ammoniak allerdings in der letzten Zeit auf Grund der Untersuchungen und Angaben englischer Autoren (Haldane, Barcroft usw.) strittig gemacht. Diese geben an, daß die Kohlensäurespannung des arteriellen Blutes das wesentlichste und feinste Kriterium vorhandener Säuerung ist. Diese Frage wird also in der nächsten Zeit viel studiert und bearbeitet werden, und so hat die Bestimmung des Ammoniaks neuerdings besondere Bedeutung. Deshalb dürfte auch der Methodik der Ammoniakbestimmung erhöhte Aufmerksamkeit gebühren.

---

[1]) Schlösing: siehe Neubauer, Journ. f. prakt. Chem. **64**, 177. M. Krüger, O. Reich und A. Schittenhelm, Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 164, 1903. A. Hahn, Med. Klinik **1913**, Nr. 39, S. 1598.

[2]) E. Münzer: a) Die harnstoffbildende Funktion der Leber. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **33**, 1893. b) Die Bedeutung der Ammoniaksalze für die Pathologie nebst einem Beitrage zum Stoffwechsel bei Leukämie. Prager med. Wochenschr. 1897.

[3]) Hallervorden, Zur Pathologie des Ammoniaks. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **38**, 1896.

Zur quantitativen Ammoniakbestimmung existieren viele Methoden, von denen die von Schlösing und die von Krüger-Reich-Schittenhelm die bekanntesten sind. Die älteste und die einfachste von diesen ist die von Schlösing angegebene. Sie besteht darin, daß in einem abgeschlossenen Raume das im Harne durch Zusatz von Kalkmilch freigewordene Ammoniak durch $^n/_x$-Schwefelsäure absorbiert wird. Durch nachfolgende Titration der vorgelegten H_2SO_4 wird der Ammoniakgehalt des Harnes bestimmt. Diese Methode erfordert fast keine Mühe, und nach 3 bis 4 Tagen soll im allgemeinen alles Ammoniak des Harnes von der H_2SO_4 aufgenommen sein.

Fast alle anderen Methoden beruhen auf demselben Prinzipe, nur mit dem Unterschiede, daß die Autoren eine Verbesserung des Verfahrens vornahmen, indem sie die einfache, einige Tage dauernde Abdunstung des Ammoniaks im Schlösingschen Apparate durch Vakuumdestillation beschleunigten. Solche Apparate haben Wurster, Nencki-Zaleski und Krüger-Reich bzw. Schittenhelm angegeben.

Der bekannteste von diesen Apparaten ist der von Krüger-Reich (modifiziert von Schittenhelm), dessen Ausführung genau in allen Lehrbüchern für Untersuchungsmethoden angegeben ist. Die Bestimmungsdauer beträgt ca. 40 Minuten, und diese Methode soll nach manchen Autoren (Klopstock und Kowarsky)[1]) ebenso genau wie die Schlösingsche sein.

1913 erschien in der Medizinischen Klinik ein Aufsatz über einen neuen Apparat zur Ammoniakbestimmung von Hahn. Dieser beruht auf demselben Prinzip wie der von Krüger-Reich-Schittenhelm und unterscheidet sich von ihm durch geringfügige Änderungen. Bei diesem Apparate ist der Destillierkolben derselbe wie im Apparate von Krüger-Reich-Schittenhelm nur mit der Modifikation, daß von dem Halse des Kolbens eine Röhre, die ringsum mit Eis gekühlt wird, zu einer mit $^n/_x$-H_2SO_4 beschickten Vorlage führt, die die Absorption des Ammoniaks besorgen soll. Die Absorptionsflasche steht in einem mit Eis gefüllten Gefäße und ist mit der Wasserstrahlpumpe verbunden. Nach den Angaben von Hahn soll in

[1]) Klopstock-Kowarsky, Praktikum der klinischen, chemischmikroskopischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden. 3. Aufl. 1915, Urban und Schwarzenberg.

seinem Apparate in 15, ja sogar schon in 10, auch 5 Minuten alles Ammoniak abdestilliert sein. Selbstverständlich wäre ein derartiger Apparat für den klinischen Gebrauch besonders geeignet. Denn die Ammoniakbestimmung würde danach beim Hahnschen Apparate 5 Minuten dauern, während sie beim Schlösingschen 3 bis 4 bzw. 6 bis 8 Tage dauert und beim Krüger-Reich-Schittenhelmschen eine Zeit von 35 bis 40 Minuten beansprucht. Auch mir erschien der Hahnsche Apparat verlockend. Im Falle diese 3 Apparate gleiche Resultate geben würden, wäre der Schlösingsche wegen der Einfachheit im Gebrauche, der Hahnsche, da er am wenigsten Zeit beansprucht, besonders zu empfehlen.

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich dem Wunsche des Vorstands gemäß beschlossen, mit den genannten 3 Appaten vergleichende Bestimmungen durchzuführen.

Zu diesem Zwecke habe ich genau nach den Angaben der obengenannten Autoren gearbeitet und habe folgende Resultate erhalten (siehe Tabelle I, S. 180).

Bevor ich zur Besprechung der Ergebnisse übergehe, möchte ich zunächst betonen, daß die von mir verwendeten Schlösingschen Glasglocken ganz klein waren (einen Durchmesser von nur 9 cm und eine Höhe von 13 cm aufweisen), entsprechend einem Vorschlage meines Chefs, der gleich kleine Glocken bei seinen vor vielen Jahren durchgeführten Ammoniakbestimmungen verwendete.

Überblicken wir die in der Tabelle I niedergelegten Resultate vergleichender Ammoniakbestimmungen nach der Methode von Schlösing und jener von Krüger-Reich-Schittenhelm, so sehen wir, daß die letztgenannte Methode durchwegs höhere Ammoniakwerte ergibt als die Schlösingsche Methode nach 4 Tagen.

Erst bei den letzten Bestimmungen titrierte ich nach achttägigem Verweilen der Harne unter der Glocke. Jetzt stimmte der Wert in einem Falle von Diabetes sehr gut mit dem Resultate der nach Krüger-Reich-Schittenhelm durchgeführten Bestimmung überein, während in einem anderen Falle, in dem es sich um den Harn einer Nephritis handelte (selbstverständlich war das Eiweiß zuvor aus dem Harne mit Pikrinsäure-Zitronensäure ausgefällt worden), eine größere Differenz

Tabelle I.

Normale Harne.

Apparat	Dauer		Harnmenge ccm	Vorgelegt $^{n}/_{10}$-H_2SO_4	Zurücktitriert $^{n}/_{10}$-NaOH	$^{n}/_{10}$-NH_3 in 25 ccm Harn
			Harn a			
Schlösing	4 Tage	A	25	18,0	8,30	9,70
"	4 "	B	25	18,0	8,40	9,60
Krüger-Reich-Schittenhelm	35 Min.	A	25	18,0	5,95	12,05
" " "	35 "	B	25	16,0	4,05	11,95
			Harn b.			
Schlösing	4 Tage	A	25	16,0	5,35	10,65
"	4 "	B	25	16,0	5,25	10,75
Krüger-Reich-Schittenhelm	35 Min.	A	25	16,0	3,55	12,45
" " "	35 "	B	25	16,0	3,60	12,40
			Harn c.			
Schlösing	4 Tage	A	25	16,0	9,35	6,65
"	4 "	B	25	16,0	9,30	6,70
Krüger-Reich-Schittenhelm	35 Min.	A	25	16,0	7,90	8,10
" " "	35 "	B	25	16,0	7,85	8,15
			Harn d.			
Schlösing	4 Tage	A	25	16,0	3,00	13,00
"	4 "	B	25	16,0	3,10	12,90
Krüger-Reich-Schittenhelm	35 Min.	A	25	16,0	1,55	14,45
" " "	35 "	B	25	16,0	1,65	14,35
			Harn e.			
Schlösing	4 Tage	A	25	16,0	4,25	11,75
"	4 "	B	25	16,0	4,10	11,90
Krüger-Reich-Schittenhelm	35 Min.	A	25	16,0	2,35	13,65
" " "	35 "	B	25	16,0	2,25	13,75
			Harn f.			
Schlösing	4 Tage	A	25	16,0	4,75	11,25
"	4 "	B	25	16,0	4,55	11,45
Krüger-Reich-Schittenhelm	35 Min.	A	25	16,0	2,65	13,35
" " "	35 "	B	25	16,0	2,60	13,40
			Pathologische Harne.			
			Harn g. Diabet. mell.			
Schlösing	8 Tage	A	25	30,0	11,05	18,95
"	8 "	B	25	30,0	10,80	19,20
Krüger-Reich-Schittenhelm	30 Min.		25	30,0	10,80	19,20
			Harn h. Nephritis.			
Schlösing	8 Tage	A	25	15,0	11,50	3,50
"	8 "	B	25	15,0	11,50	3,50
Krüger-Reich-Schittenhelm	25 Min.		25	15,0	10,80	4,20

gegenüber der Bestimmung nach Krüger-Reich-Schittenhelm bestand.

Es ist dabei von Interesse, zu konstatieren, daß die Bestimmungen nach der Schlösingschen Methode durchwegs für sich sehr gut übereinstimmen, ebenso gut als die Bestimmungen nach Krüger-Reich-Schittenhelm. Das läßt vielleicht darauf schließen, daß bei der Methode von Krüger-Reich-Schittenhelm NH_3 aus Ammoniakverbindungen frei wird, aus denen es bei Schlösing nicht entwickelt wird. Jedenfalls zeigt sich, daß wir zur klinischen Ammoniakbestimmung die Methode von Krüger-Reich-Schittenhelm jener von Schlösing vorziehen müssen und es nicht angeht, wie es manche Autoren (Klopstock und Kowarski S. 190) tun, zu sagen: „Die (Krüger-Reich-Schittenhelmsche) Methode ist ebenso genau wie die Schlösingsche", sondern umgekehrt: die Methode Schlösings kann unter Umständen mit jener Krüger-Reich-Schittenhelms übereinstimmende Werte geben, aber die letztgenannte Methode ist die sicherere und die exaktere.

In der nun folgenden Tabelle II, auf S. 182, bringe ich die Resultate vergleichender Ammoniakbestimmungen nach der Methode von Krüger-Reich-Schittenhelm einerseits, der von Hahn andererseits.

Wir sehen erstens, daß in ammoniakarmen Harnen die Destillation in der Zeit von 5 bzw. 10 Minuten noch vollkommen unzureichend ist, nach 15 Minuten allerdings ist beim ammoniakarmen Harne fast alles Ammoniak abdestilliert. So finden wir im Harne b Tabelle II durch die Methode von Hahn nach 15 Minuten dauernder Destillation in 25 ccm Harn 1,40 bis 1,45 $^n/_{10}$-NH_3, während der Krüger-Reich-Schittenhelm in der gleichen Zeit 1,48 bis 1,50 $^n/_{10}$-NH_3 ergibt. Das wären annähernd übereinstimmende Werte, doch zeigte eine zweite Bestimmungsreihe des Ammoniakgehaltes, bei der Krüger-Reich-Schittenhelm 35 Minuten im Gange blieb, einen Ammoniakwert von 1,50 bis 1,54, also noch immer etwas höhere Werte. Immerhin könnte man sich mit diesen Resultaten zufrieden geben. Betrifft aber die Ammoniakbestimmung Harne mit hohem Ammoniakgehalte, dann ist eine Versuchsdauer von 5 oder 10 Minuten vollkommen unzureichend, und selbst bei 15 Minuten ist noch eine wesentliche Differenz zu-

Tabelle II.

Apparat	Dauer		Harnmenge ccm	Vorgelegt $^{n}/_{10}$-H_2SO_4	Zurücktitriert $^{n}/_{10}$-NaOH	$^{n}/_{10}$-NH_3 in 25 ccm Harn
			Harn a.			
Hahn	5 Min.	A	25	15,0	10,32	4,68
"	5 "	B	25	15,0	10,70	4,30
"	5 "	C	25	15,0	10,20	4,80
"	10 "	A	25	15,0	8,88	6,12
"	10 "	B	25	15,0	9,25	5,75
"	10 "	C	25	15,0	9,05	5,95
"	15 "	A	25	15,0	6,40	8,60
"	15 "	B	25	15,0	6,32	8,68
Krüger-Reich-Schittenhelm	15 "	A	25	15,0	5,35	9,65
" " "	15 "	B	25	15,0	5,22	9,78
" " "	35 "	A	25	15,0	4,95	10,05
" " "	35 "	B	25	15,0	4,85	10,15
			Harn b.			
Hahn	5 Min.	A	25	15,0	14,08	0,92
"	5 "	B	25	5,0	4,00	1,00
"	10 "	A	25	5,0	3,75	1,25
"	10 "	B	25	5,0	3,60	1,40
"	10 "	C	25	5,0	3,73	1,27
"	15 "	A	25	5,0	3,55	1,45
"	15 "	B	25	5,0	3,60	1,40
Krüger-Reich-Schittenhelm	15 "	A	25	5,0	3,52	1,48
" " "	15 "	B	25	5,0	3,50	1,50
" " "	35 "	A	25	5,0	3,46	1,54
" " "	35 "	B	25	5,0	3,50	1,50

gunsten des Krüger-Reich-Schittenhelm vorhanden. So ergab im Harne a Tabelle II die Destillation nach Hahn in der Zeit von 15 Minuten bei 25 ccm Harn 8,60 bzw. 8,68 $^{n}/_{10}$-NH_3, während Krüger-Reich-Schittenhelm nach 15 Minuten 9,65 bis 9,78 $^{n}/_{10}$-NH_3 und nach 35 Minuten 10,05 bis 10,15 $^{n}/_{10}$-NH_3 ergab.

Ich habe endlich den Ammoniakgehalt von reinen Ammoniaklösungen verschiedener Konzentration (zwei ca. $^{n}/_{20}$ und eine noch stärkere Lösung) nach allen drei Methoden bestimmt und gebe die Resultate in Tabelle III auf S. 182 wieder.

Statt der zu erwartenden 25 bis 26 ccm $^{n}/_{20}$-NH_3-Lösung ergab Hahn nach 5 Minuten nur ca. 61 % des zu erwartenden Wertes, nach 10 Minuten 75 %, und erst nach 15 Minuten beträgt der gefundene Ammoniakwert 94 %. Eine Krüger-Reich-

Tabelle III.

Apparat	Dauer		Ammoniaklösung ccm	Vorgelegt $^n/_{10}$-H_2SO_4	Zurücktitriert $^n/_{10}$-NaOH	$^n/_{10}$-NH_3 in 25 ccm Harn	$^n/_{20}$-NH_3 in 25 ccm
			Ammoniaklösung a (ca. $^n/_{20}$)				
Hahn	5 Min.	A	25	15	7,12	7,88	15,76
"	5 "	B	25	15	6,90	8,10	16,20
"	10 "	A	25	15	6,00	9,00	18,00
"	10 "	B	25	15	4,45	10,55	21,10
"	15 "	A	25	15	2,55	12,45	24,90
"	15 "	B	25	15	3,40	11,60	23,20
"	15 "	C	25	15	2,30	12,70	25,40
Krüger-Reich-Schittenhelm	15 "	A	25	15	2,12	12,88	25,76
" " "	15 "	B	25	15	2,20	12,80	25,60
" " "	25 "	A	25	15	2,00	13,00	26,00
" " "	23 "	B	25	15	1,98	13,02	26,04
			Ammoniaklösung b (ca. $^n/_{20}$)				
Schlösing	4 Tage	A	25	15	3,85	11,15	22,30
"	4 "	B	25	15	4,25	10,75	21,50
Krüger-Reich-Schittenhelm	15 Min.		25	15	2,45	12,55	25,10
			Stärkere Ammoniaklösung c				
Schlösing	8 Tage	A	25	25	7,65	17,35	—
"	8 "	B	25	25	8,15	16,85	—
Krüger-Reich-Schittenhelm	25 Min.		25	25	7,35	17,65	—

Bestimmung dagegen gibt nach 15 Minuten über 98%, während nach 25 Minuten der volle Wert erreicht wird, d. h. 100%.

Die vergleichende Bestimmung wäßriger Ammoniaklösungen nach den Methoden von Schlösing und Krüger-Reich-Schittenhelm ergab ein den früheren Ergebnissen ähnliches, d. h. wurde die Bestimmung nach 4 Tagen durchgeführt, dann erschien noch bei weitem nicht alles NH_3 von der Schwefelsäure adsorbiert, so daß der erhaltene Wert zu gering gefunden wurde, während nach achttägigem Verweilen unter der Glasglocke einer wesentlich stärkeren Ammoniaklösung fast alles NH_3 vollkommen absorbiert war und diese Bestimmung mit jener nach Krüger-Reich-Schittenhelm recht gut übereinstimmt.

Nach dem Vorliegenden können wir also sagen: 1. Die nach Schlösing angestellten Bestimmungen ergeben untereinander annähernd gleiche Resultate. Ein Vergleich mit

Krüger-Reich-Schittenhelm ergibt aber nach 4 Tagen vorgenommener Bestimmung im Schlösingschen Apparate immer eine Differenz zuungunsten des Schlösingschen Verfahrens; es scheint also nach der Methode von Schlösing nicht alles Ammoniak, das im Harne enthalten ist, nach 3 bis 4 Tagen frei zu werden bzw. absorbiert zu sein; das ist vielmehr erst nach längerer Zeit, in meinen Bestimmungen erst nach 8 Tagen, und auch da nicht immer, der Fall.

Zu klinischen Untersuchungen kann die Methode Schlösings benützt werden, doch ist es nötig, in jedem Falle länger als 4 Tage, am besten eine Woche zu warten; auch nach dieser Zeit entbehren die Resultate der vollen Sicherheit.

2. Eine Ammoniakbestimmung nach Hahn liefert erst bei einer Dauer des Versuches von mindestens 15 Minuten bei ammoniakarmen Harnen ein gutes, bei ammoniakreichen Harnen ein halbwegs entsprechendes Resultat; das sind Zeiten, die keine nennenswerte Abkürzung gegenüber dem Krüger-Reich-Schittenhelmschen Verfahren bedeuten.

Dazu kommt nun noch, daß eine Reihe von rein technischen Momenten gegen die Verwendung des Hahnschen Apparates sprechen:

A. Das Krüger-Reich-Schittenhelmsche Instrumentarium geht viel leichter zu reinigen als das Hahnsche.

B. Die Vorbereitung und Zerstoßung des Eises und die Füllung des Kühlers beim Hahnschen Apparate ist umständlich und nimmt viel Zeit weg; dies fällt beim Krüger-Reich ganz weg.

In der Absorptionsflasche des Hahnschen Apparates ist ein außerordentlich starkes Springen und Stoßen der Flüssigkeit in die Höhe vorhanden, so daß immer die Gefahr besteht, daß die Luftpumpe etwas Flüssigkeit aufsaugt. Infolgedessen erfordert der Hahnsche Apparat eine besondere Aufmerksamkeit des Untersuchers, im Gegensatz zu den Angaben seines Autors, was beim Krüger-Reich durch Verwendung der Peligotschen Röhre nicht nötig ist.

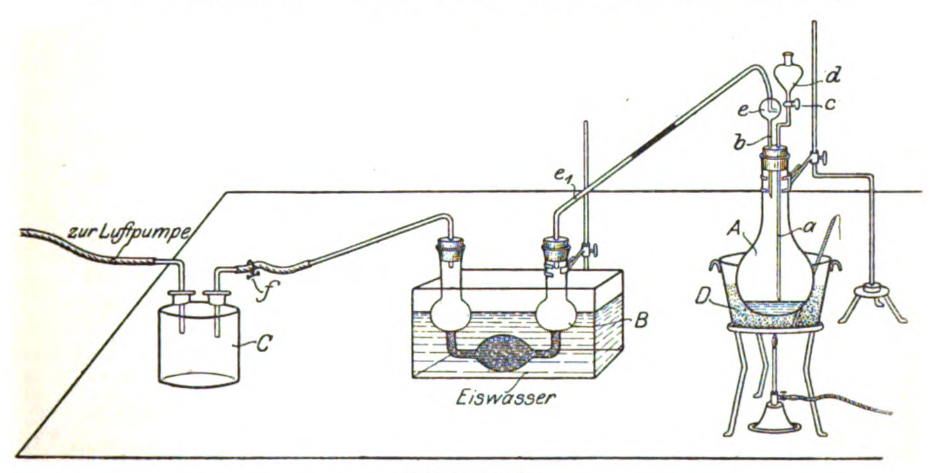
Aus dem Mitgeteilten ergibt sich, daß zur Ammoniakbestimmung im Harn die Methode von Krüger-Reich-Schittenhelm zu empfehlen ist, und dies um so mehr als die allgemein angegebene Zeit von 35 Mi-

nuten nur das Maximum darstellt, während bei der Mehrzahl der Harne ein Zeitraum von 25 Minuten zur Destillation vollkommen ausreicht, ja um diese Zeit sehr häufig bereits die ganze Flüssigkeit abdestilliert und nur ein trockner Rückstand im Destillationskolben vorhanden ist.

Noch einige Bemerkungen in technischer Beziehung.

In den verschiedenen Lehrbüchern ist der Krüger-Reichsche Apparat in einigen Einzelheiten modifiziert abgebildet. Mir bewährte sich nach vielen Versuchen am besten folgende Einrichtung:

Als Destillierkolben *A* dient ein halbliterrunder Kolben aus Jenaglas, der mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen versehen ist. Durch die eine Bohrung geht ein nach unten verengtes, fast zum Boden des Kolbens reichendes Rohr *a*, das nach oben mit einem Trichter d endet. Beim Übergang des Trichters in das Rohr befindet sich ein mit einer kapillaren Öffnung versehener Hahn *c*, so daß man den Apparat ganz absperren oder auch eine enge Öffnung lassen kann, durch die eine Flüssigkeit tropfenweise in den Kolben *A* abfließt. Durch die andere Bohrung des Kautschukstopfens geht die den Kolben *A* mit der Vorlage *B* verbindende Röhre *b*, die in der Höhe der Umbiegung einen Destillieraufsatz *e* besitzt, wie er bei dem Kjeldahlschen Apparate zur Verhinderung des Überspritzens von Flüssigkeit verwendet wird. Sie ist durch einen dicken Schlauch mit der Röhre *e* verbunden, die zur Vorlage *B* führt. Als Vorlage *B* dient eine Peligotsche, aus drei Kugeln bestehende Röhre, deren mittlere Kugel durch fast rechtwinklig gebogene Rohrteile mit den seitlichen verbunden ist. Die Peligotsche Röhre ist außerdem durch eine gebogene Röhre mit einer Wulfschen Flasche *C* verbunden. Diese Röhre ist auch durch einen dicken Schlauch,



Mit 1 Tafel.

der mit einem Quetschhahn *f* versehen ist, unterbrochen. Die Wulfsche Flasche ist mit der Luftpumpe verbunden.

Der Destillierkolben *A* steht in einem Wasserbad; die Peligotsche Röhre ist von einem Gefäß mit Eiswasser umgeben. Zunächst wird die Peligotsche Röhre mit 20—25 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 gefüllt und mit destilliertem Wasser bis zur Füllung der mittleren Kugel nachgefüllt. Darauf gibt man in den Destillierkolben *A* 25 ccm des Harnes, 10 g Kochsalz und 1 g Natriumcarbonat.

Der Destillierkolben wird sofort geschlossen, und der Apparat wird bei abgesperrtem Drehhahn *c* und entferntem Quetschhahn *f* in Gang gesetzt. Es wird danach durch die Wasserstrahlpumpe der notwendige Druck erzeugt und durch Erwärmen die Temperatur von 43° des in dem Gefäße *D* vorhandenen Wassers erreicht. Sobald im Destillierkolben mehrere kleine Blasen entstehen und man annehmen kann, daß also der bei der Temperatur von 43° notwendige Druck bzw. Zug erreicht ist, drehe man den Hahn *c* so um, daß der im Trichter befindliche 96%ige Alkohol tropfenweise in den Kolben hinunterfließt in der Menge von ca. 10 bis 12 ccm in 10 Minuten. So kann man den Apparat bei demselben Druck und anhaltender Temperatur von 43 bis 44° unter Zutropfen von ca. 30 bis 35 ccm Alkohol 35 Minuten gehen lassen oder, was bei manchen Harnen schon nach 20 Minuten vorkommt, so lange, bis die Flüssigkeit im Destillierkolben austrocknet. Dann stellt man den Apparat ab, indem man den Quetschhahn *f* schließt, die Wasserleitung sperrt und durch den Drehhahn *c* allmählich Luft in den Apparat einläßt.

Über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Sauerstoffdissoziationskurve des Hämoglobins[1].

Von

Peter Rona und Arvo Ylppö.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 28. April 1916.)

Mit 4 Figuren im Text.

Bohr[2]) hatte zuerst gefunden, daß die Sauerstoffbindung des Blutfarbstoffes bei verschiedenen Tierarten, bei verschiedenen Individuen der gleichen Art und beim gleichen Individuum zu verschiedener Zeit verschieden ist. Er glaubte, dies nur dadurch erklären zu können, daß er die Einheitlichkeit des Hämoglobins verneinte und das Vorhandensein von verschiedenen „Hämoglobinen" annahm. Ihm gegenüber standen Hüfner[3]) und seine Schule, die für die Einheitlichkeit des Blutfarbstoffes eintraten. Diese zwei entgegengesetzten Meinungen hat man erst in den letzten Jahren miteinander in Einklang bringen können. Dieses Verdienst gebührt vor allen Barcroft[4]) und seinen Mitarbeitern: M. Camis, F. Roberts, G. C. Mathison, A. V.

---

[1]) Die Versuche sind im Frühjahr 1914 ausgeführt worden (vgl. Berl. klin. Wochenschr. 52, 252, 1915); bei Kriegsausbruch mußten sie unterbrochen werden. Da wir sie nicht in absehbarer Zeit weiterführen können, teilen wir die bisherigen Befunde jetzt mit.

[2]) Christian Bohr, Blutgase und respiratorischer Gaswechsel in Nagels Handbuch der Physiologie des Menschen 1, 54, 1905/1909.

[3]) Arch. f. Physiol. 1894, 130.

[4]) J. Barcroft, The respiratory function of the blood. Monographic; Cambridge: University Press 1914.

Hill, W. O. R. King, H. L. Higgins, G. R. Mins, R. A. Peters u. a.[1]).

Bezüglich der Lichtextinktion des Hämoglobins hatte bereits Butterfield[2]) in sorgfältigen Untersuchungen nachgewiesen, daß diese beim Menschen unter allen Umständen konstante Verhältnisse zeigt, was deutlich für die einheitliche Natur des Hämoglobins sprach.

Die Untersuchungen von Peters[3]) zeigten dann, daß die spezifische Sauerstoffkapazität des Hämoglobins (d. h. die pro Gramm Eisen bei Luftsättigung gebundene Menge Sauerstoff) eine konstante Größe ist.

Ferner wurde noch von Barcroft und seinen Mitarbeitern nachgewiesen, daß die Dissoziationskurve des reinen dialysierten Hämoglobins, einerlei ob aus Menschen- oder Tierblut dargestellt, in destilliertem Wasser gelöst, immer den gleichen konstanten Verlauf unter gleichen Arbeitsbedingungen zeigt. Damit war die Einheitlichkeit des Hämoglobins bewiesen.

Fügte man aber verschiedene Salze zu der Hämoglobinlösung, so nahm die Dissoziationskurve immer einen anderen Verlauf, je nach der Menge und Art der zugeführten Salze. So konnte Barcroft auch nachweisen, daß die Dissoziationskurve des reinen Hämoglobins, nach Zufuhr von Salzen der Hundeblutkörperchen, den Verlauf nahm, den er in Hundeblut konstatiert hatte. Bei Zufuhr von Salzen der menschlichen Blutkörperchen nahm die Kurve wieder den Verlauf, den man vorher in Menschenblut gefunden hatte. Auf diese Weise wurde es klar, daß die von Bohr gefundenen Schwankungen in der Dissoziationskurve bei verschiedenen Individuen zum Teil auf verschiedenen Salzgehalt der Blutkörperchen zurückgeführt werden konnten.

Außerdem konnte Barcroft den großen Einfluß von Kohlensäure auf die Dissoziationskurve, wie ihn schon Bohr gefunden hatte, bestätigen. Er zeigte, daß ganz geringfügige

---

[1]) Die wichtigsten diesbezüglichen Arbeiten sind alle im Journ. of Physiol. erschienen und unten genauer angegeben.

[2]) Butterfield, Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**, 173, 1909 und **79**, 439, 1912.

[3]) Peters, Journ. of Physiol. **44**, 131, 1912.

Zunahme des Partialdruckes der Kohlensäure stark erniedrigend auf den Verlauf der Dissoziationskurve wirkte. Dabei hatte er aber schon im Gegensatze zu Bohr die Meinung geäußert, daß die Kohlensäure hier nicht als spezifische Säure wirkt, sondern daß die Erniedrigung im Verlaufe der Sauerstoffdissoziationskurve des Hämoglobins bei Kohlensäurezufuhr auf die Vermehrung der Wasserstoffionenkonzentration in der Lösung zurückzuführen wäre. Denn er hatte selbst beobachtet, daß Milchsäure im ähnlichen Sinne wie Kohlensäure wirkt, und sein Mitarbeiter Mathison[1]) untersuchte diese Frage in einer besonderen Arbeit.

Mathison hat mittels Indicatorenmethode in einer bestimmten Hämoglobinlösung durch Zufuhr von Kohlensäure, Milchsäure oder Salzsäure dieselbe Acidität hervorzurufen versucht. Dann hat er die mit Sauerstoff gesättigten Lösungen in Stickstoffatmosphäre reduziert und die Zeiten notiert, in denen eine bestimmte prozentuelle Sauerstoffsättigung des Hämoglobins erreicht worden war. Dabei fand er, daß die Reduktion des Oxyhämoglobins bis zu einem erwünschten Prozentsatze um so früher erreicht wurde, je mehr Säure zugeführt wurde, und daß es gleichgültig war, durch welche von diesen Säuren er die gewünschten Aciditäten hervorgerufen hatte.

Nach all dem zuletzt Gesagten war es sehr wahrscheinlich, daß die Dissoziationskurve des Hämoglobins neben den Salzen hauptsächlich von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung abhängig war. Es fehlte aber noch der direkte Beweis, und um ihn zu erbringen, haben wir diese Arbeit im Frühjahr 1914 vorgenommen.

Kurz gesagt, wir wollten feststellen, in welcher Weise die Sauerstoffdissoziationskurve einer Hämoglobinlösung von der Wasserstoffionenkonzentration derselben Lösung abhängig ist.

Die Untersuchungen gestalteten sich äußerst mühevoll; wir hatten eine Reihe von Mißerfolgen zu verzeichnen, bis wir endlich imstande waren, einwandfreie Dissoziationskurven von sauren Hämoglobinlösungen darzustellen.

Unsere Hämoglobinlösung wurde folgendermaßen dargestellt: Als Ausgangsmaterial benutzten wir Blut von gesunden,

---

[1]) Mathison, Journ. of Physiol. 43, 347, 1911.

ausgewachsenen Hunden. Es wurde direkt aus der Carotis oder Arteria femoralis morgens zwischen 8 und 10 Uhr entnommen, defibriniert und zentrifugiert. Dann wurde das Serum abgeschöpft, die Blutkörperchen 2 mal mit physiologischer Kochsalzlösung von 0,85 $^0/_0$ versetzt und zentrifugiert. Die abgesetzten Blutkörperchen wurden dann mit destilliertem Wasser vermischt. Die Menge des Wassers wechselte. In einzelnen Versuchen wurde etwas weniger genommen als die Menge des ursprünglich zentrifugierten Blutes betrug. In diesen Fällen mußte man geringe Spuren von Saponin oder Sapotoxin hinzusetzen, um die Hämolyse vollständig zu machen. In den anderen Fällen wurde je nach den Versuchsbedingungen gleich viel oder etwas mehr als die ursprüngliche Blutmenge betrug, Wasser zugesetzt. In diesen Fällen lösten sich die Blutkörperchen total ohne Saponin bzw. Sapotoxin. Die auf diese Weise dargestellten Lösungen werden im folgenden mit dem Namen „Hämoglobinlösung“ bezeichnet.

Von der Darstellung des reinen Hämoglobins haben wir Abstand genommen, weil es uns lediglich darauf ankam, die Verschiebungen im Verlaufe der Sauerstoffdissoziationskurve des Hämoglobins in einer für jeden Tag gegebenen Hämoglobinlösung, bei wechselnder Wasserstoffionenkonzentration, zu zeigen. Gewöhnliches, defibriniertes Blut konnten wir deshalb nicht benutzen, weil darin bei Säurezufuhr unweigerlich Fällungen entweder gleich oder im späteren Verlaufe entstanden. Die fertige Hämoglobinlösung wurde dann gleich in Eis gepackt und davon im Laufe des Tages die jeweilig nötige Menge entnommen.

Die Hämoglobinlösung wurde dann in eine Loewy-Zuntzsche Schüttelbirne von ca. 300 ccm Inhalt gebracht. Als Säure wurde immer $^n/_1$-Essigsäure benutzt, die, um Fällungen zu vermeiden, tropfenweise unter kräftigem Schütteln zugeführt wurde. Die Birne wurde dann unter einer Wasserstrahlpumpe evakuiert, mit dem jeweiligen Gasgemisch 2 mal gewaschen, wieder evakuiert und dann endgültig mit diesem Gasgemisch gefüllt. Die Gasgemische bestanden aus Stickstoff und Sauerstoff, die aus Bomben entnommen wurden. Sie wurden in 2 großen ca. 10 l fassenden, miteinander in Verbindung stehenden Marriotteschen Flaschen aufbewahrt und jedesmal vor dem Ein-

führen in die Birne im Haldaneschen Gasanalysenapparat auf ihren Sauerstoffgehalt geprüft. Nach dem Füllen mit dem erforderlichen Gasgemisch wurde die Birne in einem großen Wasserbade bei 38° mit Hilfe eines Motores 15 bis 20 Minuten lang geschüttelt. Nach einigen Minuten wurde der Überdruck in der Birne durch Öffnen eines Hahnes ausgeglichen. Bei sauren Mischungen führte ein länger als 25 bis 30 Minuten dauerndes Schütteln zu teilweiser Zersetzung des Hämoglobins. Nach dem Schütteln blieb die Birne noch im Wasserbade stehen, dann wurde durch Einführung von Wasser in die Gummiblase in der Birne ein Überdruck geschaffen, der die Hämoglobinlösung in eine sehr lange, 1 ccm fassende Pipette austrieb. Die gefüllte Pipette wurde dann aus dem Zusammenhange mittels Gummischlauchs von der Birne gelöst und ihr Inhalt in die kleine Birne eines Barcroftschen Differentialmanometers[1]) (für 1 ccm Blut) eingeführt. Die kleine Birne enthielt schon eine verdünnte Ammoniaklösung (4 : 1000). Das Blut wurde vorsichtig und ohne in Berührung mit der Luft zu kommen, unter diese Ammoniaklösung in die linke Birne gelassen. Die rechte Birne enthielt 1 ccm derselben Ammoniaklösung und 1 ccm der ursprünglichen mit Luft gesättigten Hämoglobinlösung. Der Manometer wurde dann in ein Wasserbad von 38° gestellt. Nach Eintreten des Gleichgewichts in den beiden Schenkeln des Manometers wurde die Gleichgewichtslage notiert, der Manometer dann vorsichtig geschüttelt, so daß das mit dem Ammoniak vermischte Blut in der linken Birne sich mit Sauerstoff sättigen konnte. Nach Notierung des Standes der Nelkenölmenisken in den beiden Schenkeln wurden die Hähne gewöhnlich geöffnet (nicht aber immer, wie aus den beigefügten Versuchsprotokollen hervorgeht), nach Eintreten des Gleichgewichts 0,1 ccm von gesättigtem Kaliumferricyanid in die linke Birne eingeführt und tüchtig geschüttelt. Wenn aus dem Blute kein Sauerstoff mehr entwich, wurde der Stand der Menisken abermals notiert. Aus der Höhendifferenz der Menisken nach dem ersten Schütteln und der Höhendifferenz nach der Zufuhr von Kaliumferricyanid

[1]) In der Barcroftschen Monographie (s. oben) genauer beschrieben. Siehe auch bei Franz Müller, Die Eigenschaften des roten Blutfarbstoffes. Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. Ergänzungsband. S. 113, 1913.

ließ sich dann die prozentuelle Sauerstoffsättigung ohne weiteres in folgender Weise berechnen:

War die Differenz nach dem ersten Schütteln z. B. 1,0 und nach dem Öffnen der Hähne und nach der Zufuhr von Kaliumferricyanid z. B. 4,0 und bezeichnen wir die in der zu untersuchenden Blutlösung ursprünglich vorhandene Sauerstoffmenge mit X, so ist die Gesamtmenge von Sauerstoff, die die Blutlösung überhaupt aufnehmen konnte, $X + 1$. Andererseits betrug aber die Gesamtmenge von Sauerstoff, die sich bekanntlich mittels Kaliumferricyanid aus einer Hämoglobinlösung quantitativ austreiben läßt, $= 4$. Die Gesamtaufnahme und die Gesamtabgabe sind gleich, also $X + 1 = 4$; $X = 3$; d. h. das Blut war vor dem Schütteln zu $^3/_4$ gesättigt $= 75\,^0/_0$ Sättigung.

Aus dem jeweiligen Barometerdruck, der jeweiligen Temperatur und aus dem prozentuellen Sauerstoffgehalt in der Schüttelbirne ließ sich dann jedesmal ohne weitere Korrektur der Partialdruck des Sauerstoffs in der Birne ermitteln.

Aus den Zahlen baut man dann ein Koordinatensystem, so daß auf der Abscisse die Partialdrucke und auf der Ordinate die Zahlen für prozentuelle Sättigung angegeben werden. So entsteht die Dissoziationskurve des Hämoglobins, wenn man mehrere korrespondierende Punkte dieses Systems miteinander verbindet.

Acidität: Die Acidität unserer Hämoglobinlösungen haben wir auf elektrometrischem Wege ermittelt. Wir haben dazu eine Apparatur in der Anordnung benutzt, wie sie Michaelis für die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration angegeben hat. Die Hämoglobinlösungen wurden anfangs vor und nach dem Schütteln mit den erforderlichen Gasgemischen in der Birne gemessen. Es zeigte sich aber bald, daß die Wasserstoffionenkonzentration einer Hämoglobinlösung vollkommen unabhängig von ihrer Sauerstoffsättigung ist. Einige Hämoglobinlösungen zeigten dieselbe Wasserstoffionenkonzentration, einerlei ob sie vollkommen reduziert oder ob sie mit Sauerstoff gesättigt waren. Auch das Schütteln im Wasserbade, wie wir es vorher beschrieben haben, rief keine Verschiebung der Acidität hervor. Aus diesem Grunde haben wir im späteren Verlaufe der Arbeit die Acidität meistens nur nach dem Schütteln gemessen.

Zum Sauermachen unserer Hämoglobinlösungen haben

wir ausschließlich Essigsäure benutzt und zwar Normalessigsäure, um unnötige Verdünnungen der Hämoglobinlösungen zu vermeiden. Die Essigsäure wurde tropfenweise unter heftigem Schütteln in die Lösung geführt. Die Menge derselben ist in den unten aufgeführten Versuchen angegeben. Oft entstand, beim Versuch eine etwas größere Acidität hervorzurufen, eine Fällung unmittelbar im Anschluß an das Mischen, die eine weitere Bestimmung unmöglich machte. In anderen Versuchen entstand die Fällung erst beim Schütteln im Wasserbade, doch gelang es uns mehrmals, Aciditäten hervorzurufen, deren Wasserstoffexponenten $P_H = 6$ waren, ohne daß diese schädlichen Fällungen auftraten. Über diese Aciditäten hinaus, in der sauren Richtung, scheiterten aber anfangs alle Versuche, bis es uns dann im späteren Verlaufe der Arbeit gelang, durch passendes Verdünnen der Hämoglobinlösungen noch stärkere Wasserstoffionenkonzentrationen hervorzurufen, ohne daß sichtbare Fällungen auftraten. Siehe darüber später.

Zuerst handelte es sich bei uns darum, eine normale Dissoziationskurve für unsere Hämoglobinlösungen aufzubauen. Es zeigte sich aber auch dabei, daß die Dissoziationskurven von an verschiedenen Tagen und von verschiedenen Hunden vorbereiteten Hämoglobinlösungen, die so dargestellt wurden wie die unsrigen, doch nicht zusammenfielen. Einzelne einander entsprechende Punkte wichen auf der Kurve bis $15^0/_0$ voneinander ab. Abweichungen, die nicht mehr allein aus methodischen Fehlerquellen erklärt werden konnten, sondern deren Ursache anderswo zu suchen ist. Inwieweit dabei verschiedene Schwankungen in der Zusammensetzung der Blutkörperchensalze in Frage kommen, mag dahingestellt bleiben. Nach den Versuchen von Barcroft wäre diese Erklärung möglich. Aber ebenso möglich wäre es auch, daß die verschiedenen Verdünnungen der Hämoglobinlösungen an einzelnen Tagen die Abweichung verursachen; möglich wäre es auch, daß diese beiden Faktoren zusammenwirken konnten.

Durch mehrere Versuche konnten wir aber eine Normaldissoziationskurve aufbauen. Sie ist auf der Abb. 1 gezeichnet. Die darauf befindlichen Punkte sind an mehreren Tagen bestimmt und je nachdem durch besondere Zeichen erklärt worden. Die an ein und demselben Tage festgestellten

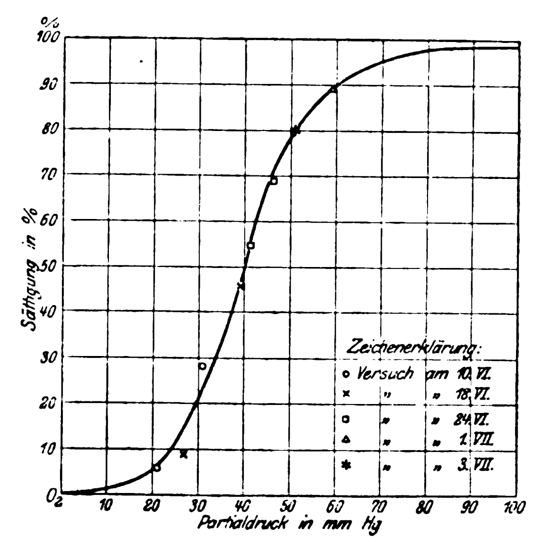


Fig. 1. Die O_2-Dissoziationskurve der Hunde-Hämoglobinlösungen bei 38°.

Punkte haben immer das gleiche Zeichen, das genauer auf den nachfolgenden Protokollen angegeben worden ist. Diese Normalkurve unserer Hämoglobinlösungen weicht in ihrem Verlaufe

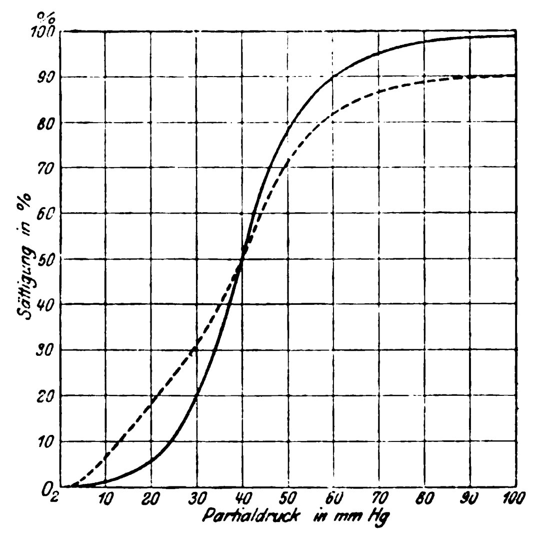


Fig. 2. Normal-O_2-Dissoziationskurve unserer Hunde-Hämoglobinlösungen = ——, daneben dieselbe für Hundeblut bei 38° und bei CO_2-Druck 40 mm Hg = -----.

etwas von denen von **Barcroft** für Hundeblut festgestellten ab. Die Abweichung der beiden Kurven demonstriert Abb. 2. Die **Barcroft**sche Kurve gilt für Hundeblut und Hämoglobinlösungen mit Salzen von Hundeblutkörperchen versetzt, beim Vorhandensein von Kohlensäuredruck von 40 mm; und die Abweichung zwischen seiner und unserer Kurve ist danach wohl auf Kohlensäure zurückzuführen.

Um den Gang unserer Untersuchungen in den Einzelheiten verfolgen zu können, legen wir im nachfolgenden einige Protokolle von den zahlreichen Versuchen vor.

Versuche am 11. VI. 1916.

Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Die Menge des destillierten H_2O = die des ursprünglichen Blutes. Messerspitze Sapotoxin.

Bestimmung I.

25,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung.

In der Birne geschüttelt von $10^h 15'$ bis $10^h 40'$ = 25 Min.
Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . ca. 4,0% O_2.
Gasanalyse aus der Birne . . . 4,1% O_2.

Temperatur: 22°. Druck: 759,0 mm Hg.
Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38,3°.
In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	10,80	10,82	—	Gesamt-O_2-Menge aus der Hgbn.-Lösg. links 3,51, rechts 3,85.
Nach dem Schütteln . .	12,16	9,67	2,51	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher nicht geöffnet	10,40	11,42	1,00	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	12,62	9,29	3,35	

Sättigung . . 28,5%.
O_2-Druck . . 31,1 mm Hg.
EMK . . . . 670,0 Millivolt; 22,5°.
P_H . . . . 7,22.

Der dieser Bestimmung entsprechende Punkt ist auf der Dissoziationskurve Fig. 1 mit O bezeichnet.

Bestimmung II.

25,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung.

In der Birne geschüttelt von $11^h 15'$ bis $11^h 40' = 25$ Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . ca. 3 % O_2.

Gasanalyse aus der Birne . . . . 2,8 % O_2.

Temperatur: 22°. Druck: 759,0 mm Hg.

Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,3°.

In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	RechteBirne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	10,86	10,88	—	Gesamt-O_2-Menge aus der Hgbn.-Lösg. links 3,15, rechts 3,26.
Nach dem Schütteln . .	12,43	9,45	3,00	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	9,34	12,56	3,20	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	12,54	9,30	3,26	

Sättigung . . . . 6,3 %.

O_2-Druck . . . . 21,3 mm Hg.

EMK nach dem Schütteln 669,5 Millivolt; 22,5°.

P_H . . . . 7,21.

Der dieser Bestimmung entsprechende Punkt ist auf der Dissoziationskurve Fig. 1 mit O bezeichnet.

Versuche am 18. VI. 1914.

Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Die Menge des destillierten H_2O = die des ursprünglichen Blutes. Messerspitze Sapotoxin.

Bestimmung I.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung.

In der Birne geschüttelt ca. 25 Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 5,2 % O_2.

Gasanalyse aus der Birne . . . 5,2 % O_2.

Temperatur: 22,2°. Druck: 760,0 mm Hg.
Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,4°.
In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	11,98	12,00	—	Gesamt-O_2-Menge aus der Blutlösung 5,30.
Nach dem Schütteln . .	13,50	13,53	2,99	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher nicht geöffnet	10,80	13,23	2,41	

Sättigung . . . . 45,7 %.
O_2-Druck . . . . 39,5 mm Hg.
EMK nach dem Schütteln 689,0 Millivolt bei 22°.
P_H . . . . 7,55.

Der dieser Bestimmung entsprechende Punkt auf der Dissoziationskurve Fig. 1 mit × bezeichnet.

Bestimmung II.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung.
In der Birne geschüttelt ca. 25 Min.
Nach dem Schütteln: klar.
Gasgemisch . . . . 3,6 % O_2.
Gasanalyse aus der Birne . . . 3,55 % O_2.
Temperatur: 22,2°. Druck: 760 mm Hg.
Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,4°.
In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	11,90	11,94	—	Gesamt-O_2-Menge 5,10.
Nach dem Schütteln . .	14,32	9,67	4,69	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	11,77	12,22	0,41	

Sättigung . . . . 9,0 %.
O_2-Druck . . . . 27,4 mm Hg.
EMK nicht gemessen, siehe die vorige Bestimmung.

Der dieser Bestimmung entsprechende Punkt auf der Dissoziationskurve Fig. 1 mit × bezeichnet.

Nachdem wir nun zwei sichere Punkte auf der Dissoziationskurve der normalen Hämoglobinlösung bestimmt hatten, versetzten wir einen Teil davon mit Essigsäure. Das Gasgemisch war dasselbe wie in der Bestimmung I.

Aus der folgenden

Bestimmung III

ist das Nähere ersichtlich.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung }
0,4 ccm $^n/_1$-Essigsäure . . . } gemischt.

In der Birne geschüttelt ca. 20 Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 5,23 $^0/_0$ O_2.
Gasanalyse aus der Birne . . . 5,3 $^0/_0$ O_2.

Temperatur: 22°. Druck 760 mm Hg.

Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,0°.

In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	11,88	11,91	—	Gesamt-O_2-Menge der Hgbn.-Lösung: 6,14.
Nach dem Schütteln . .	13,98	10,00	4,01	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher nicht geöffnet	10,88	13,03	2,13	

Sättigung . . . . 34,7 $^0/_0$.
O_2-Druck . . . . 40,3 mm Hg.
EMK nach dem Schütteln 662,8 Millivolt 22°.
P_H . . . . 7,07.

Die Wirkung der verhältnismäßig kleinen Zunahme von Wasserstoffionenkonzentration auf die $^0/_0$-O_2-Sättigung war sehr beträchtlich; bei O_2-Druck von ca. 40 mm war die Sättigung in der Bestimmung I ca. 46 $^0/_0$, hier bei demselben Druck nur ca. 35 $^0/_0$.

Versuch am 24. VI. 1914.

Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Die Menge des H_2O = die des ursprünglichen Blutes. Messerspitze Sapotoxin.

Bestimmung I.

30,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung.

In der Birne geschüttelt ca. 25 Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 4,7 % O_2.

Gasanalyse aus der Birne . . . . 6,0 % O_2.

Temperatur: 23°. Druck: 760 mm Hg.

Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,3°.

In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,30	12,35	—	Gesamt O_2-Menge der zu untersuchenden Hgbn.-Lösung: 4,32, aus der Vergleichslösung 4,12.
Nach dem Schütteln . .	13,01	11,70	1,36	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher nicht geöffnet	10,86	13,87	2,96	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	14,47	10,40	4,12	

Sättigung . . . . 68,5 %.

O_2-Druck . . . . 45,6 mm Hg.

EMK nicht gemessen.

Nachdem man die zur Bestimmung der %-Sättigung erforderliche Blutmenge aus der Schüttelbirne entnommen hatte, wurde sie bei gleichbleibender Blutlösung mit demselben Gasgemisch gefüllt und zur Bestimmung II benutzt.

Bestimmung II.

ca. 25 ccm obiger Hgbn.-Lösung.

In der Birne geschüttelt von 11h 30′ bis 12h = 30 Min.

Nach dem Schütteln: klar

Gasgemisch . . . . wie vorher.

Gasanalyse aus der Birne . . 5,4 % O_2.

Temperatur: 23°. Druck 760 mm Hg.

Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,3°.
In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,26	12,30	—	Gesamt-O_2-Menge der Hgbn.-Lösung: 4,29.
Nach dem Schütteln . .	13,29	11,38	1,95	
Kaliumferricyanid links .	11,12	13,50	2,34	

Sättigung . . . 54,5 %.
O_2-Druck . . . 41,0 mm Hg.
EMK nicht gemessen.

Die diesen Bestimmungen I und II entsprechenden Punkte auf der Dissoziationskurve Fig. 1 mit □ bezeichnet.

Versuche am 1. VII. 1914.

Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Die Menge des H_2O = die des ursprünglichen Blutes. Messerspitze Sapotoxin.

Bestimmung I (ohne Säure).

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung.
In der Birne geschüttelt von 12 bis 12h 25′ = 25 Min.
Gasgemisch . . . . 6,9 % O_2.
Gasanalysen aus der Birne . $\left.\begin{matrix}8,1\,\%\\7,8\,\%\end{matrix}\right\} = 8\,\%\ O_2$.
Temperatur: 24°. Druck 760 mm Hg.
Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,2°.
In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,02	12,06	—	Gesamt-O_2-Menge der zu untersuchenden Hgbn.-Lösung: 4,08, der Vergleichslösung 4,10.
Nach dem Schütteln . .	12,31	11,90	0,45	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,07	14,19	4,08	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	14,16	10,10	4,10	

Sättigung . . . 89,0 %.
O_2-Druck . . . 59,3 mm Hg.
EMK nicht gemessen.

Der dieser Bestimmung entsprechende Punkt auf der Dissoziationskurve Fig. 1 mit △ gezeichnet.

Ein anderer Teil von derselben Hämoglobinlösung wurde mit Essigsäure versetzt. Auch hier war ein starker Einfluß bei nur verhältnismäßig wenig gesteigerter Acidität zu konstatieren, wie aus der folgenden Bestimmung hervorgeht.

Bestimmung II (mit Säure).

40,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung } gemischt.
0,62 $^n/_1$-Essigsäure . . . . . }

In der Birne geschüttelt von $12^h 10'$ bis $12^h 45' = 35$ Min.
Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 6,9 % O_2.
Gasanalyse aus der Birne . . . 7,42 % O_2.

Temperatur: 24°. Druck: 760 mm Hg.
Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,2°.
In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,02	12,06	—	Nach dem Schütteln links geringe fein flockige Trübung, ziemlich hellrosa.
Nach dem Schütteln . .	12,91	11,30	1,65	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,20	14,00	3,86	

Sättigung . . 57,2 %.
O_2-Druck . . 56,2 mm Hg.

Versuch am 3. VII. 1914.

Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Die Menge des H_2O = die des ursprünglichen Blutes. Hämolyse vollkommen ohne Sapotoxin. Bestimmung I mit ungesäuerter Hämoglobinlösung, II und III mit saurer Hämoglobinlösung.

Bestimmung I.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung.

In der Birne geschüttelt von 2h 15′ bis 2h 33′ = 18 Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 5,8 % O_2.

Gasanalysen aus der Birne I 6,85 % } = 6,75 % O_2.
" " " " II 6,65 %

Temperatur: 27,6°. Druck: 760,0 mm Hg.

Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,4°.

In die beiden Birnen ca. 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,10	12,14	—	
Nach dem Schütteln . .	12,30	11,80	0,54	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,62	13,41	2,75	

Sättigung . . . . 80,4 %.

O_2-Druck . . . . 51,7 mm Hg.

EMK nach dem Schütteln 674,0 Millivolt bei 26°.

P_H . . . . 7,23.

Der dieser Bestimmung entsprechende Punkt auf der Dissoziationskurve Fig. 1 mit * bezeichnet.

Bestimmung II (saure Hämoglobinlösung).

15,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung } um 12h 5′ gemischt.
0,4 " $^n/_1$-Essigsäure

In der Birne geschüttelt von 12h 15′ bis 12h 35′ = 20 Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 5,80 % O_2.

Gasanalyse aus der Birne I . . 5,47 % } = 5,44 % O_2.
" " " " II . . 5,40 %

Temperatur: 27°. Druck: 760 mm Hg.

Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,4°.

In die Birne ca. 1 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,08	12,12	—	Saure Lösung blieb nach dem Schütteln merkbar dunkler als die Lösung rechts.
Nach dem Schütteln . .	12,96	11,14	1,86	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,69	13,38	2,65	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	13,40	10,71	2,73	

Sättigung . . . . 30,0 % O_2.
O_2-Druck . . . . 41,3 mm Hg.
EMK nach dem Schütteln . 585,0 Millivolt, 26°.
P_H . . . . 5,73.

Bestimmung III (saure Hämoglobinlösung).

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung }
0,4 „ $^n/_1$-Essigsäure } um $10^h 40'$ gemischt.

In der Birne geschüttelt von 11^h bis $11^h 35' = 35$ Min.
Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 5,80 % O_2.
Gasanalyse aus der Birne I . . 5,65 % }
„ „ „ „ II . . 5,60 % } = 5,6 % O_2.

Temperatur: 26,6°. Druck: 760 mm Hg.
Differentialmanometer im Wasserbade bei 38,4°.
In die Birne ca. 1 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,00	12,05	—	Die saure Lösung blieb nach dem Schütteln immer noch deutlich dunkler als die Lösung rechts.
Nach dem Schütteln . .	12,76	11,32	1,49	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,70	13,30	2,55	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	13,30	10,80	2,55	

Sättigung . . . . 41,6 % O_2.
O_2-Druck . . . . 42,6 mm Hg.
EMK nach dem Schütteln . 606,0 Millivolt, 26°.
P_H . . . . 6,1.

Der Einfluß der Aciditätssteigerung auf die O_2-Dissoziationskurve geht schon deutlich aus den obigen Versuchen hervor. Aber noch deutlicheren Einblick in diese Verhältnisse bekommen wir durch diejenigen Versuche, die uns ermöglichten, an einem und demselben Tage mehrere Punkte auf der Dissoziationskurve einer sauren Hämoglobinlösung zu bestimmen und die so entstandene Kurve mit der Dissoziationskurve einer noch saureren Hämoglobinlösung (dieselbe Stammlösung in den Versuchen!) zu vergleichen.

Aus den diesbezüglichen Versuchen geben wir hier nur die Protokolle von

Versuchen am 29. VII. 1914

an. Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Um Fällungen bei der Säurezufuhr zu vermeiden, betrug die Menge des H_2O 95 ccm, die des ursprünglichen Blutes nur 80 ccm.

Bestimmung I (saure Lösung).

25,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung
0,3 „ $^n/_1$-Essigsäure } um $11^h 30'$ gemischt.

Davon 10 ccm in der Birne geschüttelt von $11^h 40'$ bis 12^h = 20 Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 12,20% O_2.
Gasanalyse aus der Birne I . . 12,4% O_2.

Temperatur: 20°. Druck: 745 mm Hg.

Differentialmanometer I im Wasserbade bei 37,5°.

In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,30	8,35	—	Lösung links nach dem Schütteln etwas dunkler als rechts, klar.
Nach dem Schütteln . .	8,84	7,90	0,99	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,70	10,08	3,33	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	10,10	6,70	3,45	

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn-Lösung	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,60	12,55	—	Lösung links nach
Nach dem Schütteln . .	13,20	12,13	1,02	dem Schütteln etwas
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,94	14,40	3,51	dunkler als rechts, klar.

Sättigung a . . . 70,30 °/₀ } = 70,6 °/₀ O_2.
„ b . . . 70,90 °/₀

O_2-Druck . . . . 92,38 mm Hg.

EMK vor dem Schütteln 635 } = 632,0 Millivolt, 20°.
„ nach „ „ 629

P_H . . . . 6,6.

Bestimmung II (saure Lösung).

25,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung } um $11^h 30'$ gemischt.
0,3 „ $^n/_1$-Essigsäure

Davon 10 ccm in der Birne geschüttelt von $11^h 40'$ bis $12^h 10'$ = 30 Min.

Nach dem Schütteln: klar.

Gasgemisch . . . . 8,50 °/₀ O_2.

Gasanalyse aus der Birne I . . 8,2 °/₀ O_2.

Temperatur: 20°. Druck: 745 mm Hg.

Differentialmanometer I im Wasserbade bei 37,5°.

In die beiden Birnen 1 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,25	8,30	—	Lösung links nach
Nach dem Schütteln . .	9,20	7,44	1,81	dem Schütteln etwas
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,60	10,—	3,35	dunkler als rechts, aber klar.

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I, aber die Blutmenge war nur 0,8 ccm.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,54	12,50	—	Lösung links nach dem Schütteln etwas dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	13,35	11,80	1,51	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	11,35	13,86	2,55	

Sättigung a . . . 46 %, b . . . 40 % } = 43 % O_2.
O_2-Druck . . . . . 63,33 mm Hg.
EMK vor dem Schütteln, „ nach „ „ } nicht gemessen, siehe vorige Messung.

Bestimmung III (stärker saure Lösung).

35,00 ccm obiger Hgbn.-Lösung, 0,55 „ $^n/_1$-Essigsäure } um 1h 45′ gemischt.
In der Birne geschüttelt von 2h 11′ bis 2h 33′ = 22 Min.
Nach dem Schütteln: unverändert klar.
Gasgemisch . . . . 12,20 % O_2.
Gasanalysen aus der Birne I . 12,35 %, Gasanalysen aus der Birne II . 12,65 % } = 12,50 % O_2.
Temperatur: 20°. Druck: 751 mm Hg.
Differentialmanometer II im Wasserbade bei 37,5°.
In die beiden Birnen 1,0 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,52	12,50	—	Lösung links nach dem Schütteln bedeutend dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	13,50	11,78	1,70	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,42	14,85	4,45	

Differentialmanometer II Anordnung wie oben.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,52	12,50	—	Lösung links nach dem Schütteln bedeutend dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	13,47	11,70	1,75	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,62	14,50	3,90	

Sättigung a . . . . 61,80 }
" b . . . . 57,70 } = 59,8 % O_2.
O_2-Druck . . . . 89,13 mm Hg.
EMK vor dem Schütteln . . 600,6 Millivolt, 20°.
P_H . . . . 6,06.

Bestimmung IV (dieselbe Lösung wie bei III).

35,00 ccm obiger Hgbn.-Lösung }
0,55 " $^n/_1$-Essigsäure } um 1^h 45′ gemischt.
In der Birne geschüttelt von 2^h 4′ bis 2^h 22′ = 18 Min.
Nach dem Schütteln: unverändert klar.
Gasgemisch . . . . 8,5 % O_2.
Gasanalysen aus der Birne I . . 8,85 % O_2.
" " " " II . . —
Temperatur: 20°. Druck: 751 mm Hg.
Differentialmanometer I im Wasserbade bei 37,5°.
In die beiden Birnen ca. 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,35	8,40	—	Lösung links nach dem Schütteln bedeutend dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	9,41	7,25	2,21	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,34	10,27	3,88	

Differentialmanometer I Anordnung wie oben.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,35	8,40	—	Lösung links nach dem Schütteln bedeutend dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	9,40	7,28	2,17	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,64	9,90	3,21	

Sättigung a . . . . 43,00 % }
" b . . . . 32,40 % } = 37,7 % O_2.
O_2-Druck . . . . 66,30 mm Hg.
EMK vor dem Schütteln . . . 600,60 Millivolt, 20°.
P_H . . . . 6,06.

Das Ergebnis aller dieser am 29. VII. ausgeführten Bestimmungen ist auf der Fig. 3 graphisch dargestellt.

Uns war in mehreren Einzelversuchen schon aufgefallen, daß die Sauerstoffsättigung oft bei stärkerer Acidität ganz unerwartet hoch war. Bei manchen von den ersten diesbezüglichen Versuchen waren aber kleinere Trübungen in den Hämo-

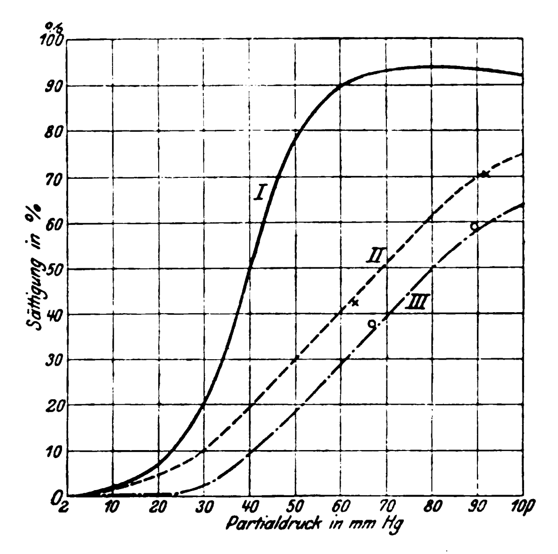


Fig. 3.
Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die O_2-Dissoziationskurve des Hämoglobins bei 38°.
I Neutrale Lösung. $P_H = 7{,}2$.
II Saure „ $P_H = 6{,}6$.
III „ „ $P_H = 6{,}06$.

globinlösungen während des Schüttelns entstanden, und wir führten die hohe prozentuelle Sättigung auf diese Fällung zurück, ohne zuerst des näheren über diese Befunde nachzudenken. Später gelang es uns dann aber, durch vorsichtiges Verdünnen der Lösung jegliche Fällung auszuschalten; trotzdem wurden bei stärkerer Acidität auffallend hohe prozentuelle Sättigungen gefunden. Wir dachten dann an eine Säurezersetzung des Hämoglobins als Ursache der Erscheinung. In dieser Annahme wurden wir dadurch bestärkt, daß diese stärker sauren Hämoglobinlösungen nach Sauerstoffsättigung trotz starken Schüttelns immer etwas, oft sogar bedeutend dunkler blieben als die Ver-

gleichs-Hämoglobinlösungen. Die weiteren Versuche zeigten aber, daß sich aus diesen etwas dunkleren, sauren Hämoglobinlösungen doch dieselbe Menge Sauerstoff pro 1 ccm mit Kaliumferricyanid austreiben ließ wie aus den ungesäuerten Vergleichslösungen. Außerdem stimmten zwei Parallelversuche gut miteinander. Es konnte demnach keine Zerstörung des den Sauerstoff aufnehmenden Komponenten des Hämoglobinmoleküls in Frage kommen.

Die folgenden Versuche, deren Protokolle wir hier wiedergeben, zeigen mit Deutlichkeit, daß es sich hier nicht um Zufälligkeiten, sondern um eine prinzipiell wichtige Umkehrung in dem Sauerstoffbindungsvermögen des Hämoglobins bei Überschreitung einer gewissen Aciditätsgrenzzone handelt.

Versuche am 27. VII. 1914.

Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Die Menge des destillierten H_2O betrug 95 ccm, die des ursprünglichen Blutes 75 ccm.

Bestimmung I.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung }
0,5 " $^n/_1$-Essigsäure } um $11^h 45'$ gemischt.

In der Birne geschüttelt von 12^h bis $12^h 16' = 16$ Min.

Nach dem Schütteln: unverändert klar.

Gasgemisch . . . . 12,50% O_2.
Gasanalysen aus der Birne I . . 12,70% O_2.
" " " " II . . —

Temperatur: 20°. Druck: 750 mm Hg.

Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38,2°.

In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,50	8,55	—	Nach dem Schütteln Lösung links dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	8,70	8,37	0,38	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,40	10,60	4,15	

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,65	12,65	—	Nach dem Schütteln Lösung links dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	12,87	12,50	0,37	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,55	14,90	4,35	

Sättigung a . . . . . 90,5 %
" b . . . . . 91,0 % } = 90,8 % O_2..

O_2-Druck . . . . 95,3 mm Hg.

EMK vor dem Schütteln 569,8
" nach " " 572,5 } = 571,6 Millivolt, 20°.

P_H . . . . 5,56.

Bestimmung II.

20,00 ccm obiger Hgbn.-Lösung
0,35 " $^n/_1$-Essigsäure } um $1^h 20'$ gemischt.

In der Birne geschüttelt von $1^h 30'$ bis $1^h 46'$ = 16 Min.

Nach dem Schütteln: unverändert klar.

Gasgemisch . . . . 12,50 % O_2.

Gasanalysen aus der Birne I . . 11,70 %
Gasanalysen aus der Birne II . . 14,00 % } = 12,80 % O_2.

Temperatur: 20°. Druck: 750 mm Hg.

Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38,2°.

In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,55	8,60	—	Nach dem Schütteln Lösung links etwas dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	9,20	7,95	1,30	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,60	10,55	3,90	

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I.

	Linke Birne: die zu unters. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,68	12,65	—	Nach dem Schütteln Lösung links etwas dunkler als rechts, aber klar.
Nach dem Schütteln . .	13,43	12,05	1,35	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,70	14,70	4,03	

Sättigung a . . . . . . 66,7 % } = 66,6 % O_2.
" b . . . . . . 66,5 % }
O_2-Druck . . . . 96,0 mm Hg.
EMK vor dem Schütteln . 591,2 } = 588,8 Millivolt, 20°.
" nach " " . 586,5 }
P_H . . . . 5,85.

Bestimmung III.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung } um $2^h 10'$ gemischt.
0,23 " $^n/_1$-Essigsäure }
In der Birne geschüttelt von $2^h 18'$ bis $2^h 42'$ = 24 Min.
Nach dem Schütteln: unverändert klar.
Gasgemisch . . . . 12,50 % O_2.
Gasanalysen aus der Birne I . 12,70 % O_2.
" " " " II . —
Temperatur: 20°. Druck: 750 mm Hg.
Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38,2°.
In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,55	8,60	—	Nach dem Schütteln
Nach dem Schütteln . .	9,16	8,00	1,21	Lösung links etwas
Kaliumferricyanid links,				dunkler als rechts,
Hähne vorher geöffnet	6,82	10,27	3,40	aber klar.

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,70	12,70	—	Nach dem Schütteln
Nach dem Schütteln . .	13,30	12,18	1,12	Lösung links etwas
Kaliumferricyanid links,				dunkler als rechts,
Hähne vorher geöffnet	10,92	14,55	3,65	aber klar.

Sättigung a . . . . 64,40 % } = 66,80 % O_2.
" b . . . . 69,20 % }
O_2-Druck . . . . 95,30 mm Hg.

EMK vor dem Schütteln . } 612,00 Millivolt, 20°.
" nach " " . }
P_H . . . . 6,25.

Bestimmung IV.

20,00 ccm obiger Hgbn.-Lösung } um $3^h 5'$ gemischt.
0,15 " $^n/_1$-Essigsäure }

In der Birne geschüttelt von $3^h 10'$ bis $3^h 32'$ = 22 Min.

Nach dem Schütteln: unverändert klar.

Gasgemisch . . . . 12,50% O_2.

Gasanalysen aus der Birne I . . 12,40% } = 12,60% O_2.
Gasanalysen aus der Birne II . . 12,70% }

Temperatur: 20°. Druck: 750 mm Hg.

Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38,2°.

In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,55	8,60	—	Nach dem Schütteln
Nach dem Schütteln . .	9,03	8,10	0,98	Lösung links etwas
Kaliumferricyanid links,				dunkler als rechts,
Hähne vorher geöffnet	6,68	10,40	3,67	aber klar.

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,70	12,68	—	Nach dem Schütteln
Nach dem Schütteln . .	13,26	12,19	1,05	Lösung links etwas
Kaliumferricyanid links,				dunkler als rechts,
Hähne vorher geöffnet	10,78	14,70	3,94	aber klar.

Sättigung a . . . . 73,30% } = 73,30% O_2,
" b . . . . 73,30% }

O_2-Druck . . . . 94,50 mm Hg.

EMK nach dem Schütteln . . 626,00 Millivolt, 20°.

P_H . . . . 6,49.

Versuche am 28. VII. 1914.

Hämoglobinlösung wie oben dargestellt. Die Menge des destill. Wassers betrug 90 ccm, die des ursprünglichen Blutes 70 ccm.

Bestimmung I.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung } um $12^h 5'$ gemischt.
0,6 „ $^n/_1$-Essigsäure . . . }

In der Birne geschüttelt von $12^h 15'$ bis $12^h 34'$ = 19 Min.

Nach dem Schütteln: unverändert klar.

Gasgemisch . . . . 12,55 % O_2.

Gasanalyse aus der Birne . . I 12,40 } = 12,4 % O_2.
„ „ „ „ . . II — }

Temperatur: 21°. Druck: 750 mm Hg.

Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38,2°.

In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,36	8,40	—	Nach dem Schütteln Lösung links deutlich dunkler als rechts, aber klar
Nach dem Schütteln . .	8,78	8,06	0,76	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,70	10,08	3,34	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	10,10	6,74	3,40	

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,60	12,58	—	Nach dem Schütteln Lösung links deutlich dunkler als rechts, aber klar
Nach dem Schütteln . .	13,03	12,38	0,63	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,86	14,56	3,72	
Kaliumferricyanid rechts, Hähne vorher geöffnet	14,52	10,95	3,55	

Sättigung a . . . . 77,2 } = 80,1 %.
„ b . . . . 83,0 }

O_2-Druck . . . . 93,0 mm Hg.
EMK vor dem Schütteln 560 } = 557 Millivolt 20°.
nach „ „ 554 }
P_H . . . . 5,30.

Bestimmung II.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung } um 1^h gemischt.
0,28 „ $^n/_1$-Essigsäure . . . }
In der Birne geschüttelt von $1^h 12'$ bis $1^h 32'$ = 20 Min.
Nach dem Schütteln: unverändert klar.
Gasgemisch . . . . 12,55 % O_2.
Gasanalyse aus der Birne . . I 12,00 } = 12,00 % O_2.
„ „ „ „ . . II — }
Temperatur: 21°. Druck: 750 mm Hg.
Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38°.
In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,40	8,45	—	Nach dem Schütteln Lösung links etwas dunkler als rechts, aber klar
Nach dem Schütteln . .	9,15	7,76	1,44	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	6,74	10,15	3,36	

Differentialmanometer II Anordnung wie bei Manometer I.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	12,60	12,60	—	Nach dem Schütteln Lösung links etwas dunkler als rechts, aber klar
Nach dem Schütteln . .	13,35	11,97	1,38	
Kaliumferricyanid links, Hähne vorher geöffnet	10,85	14,60	3,75	

Sättigung a . . . . 57,1 } = 60,2 % O_2.
„ b . . . . 63,2 }
O_2-Druck . . . . 90,0 mm Hg.
EMK vor dem Schütteln 609,6 } = 611,0 Millivolt 20°.
nach „ „ 612,2 }
P_H . . . . 6,23.

Bestimmung III.

20,0 ccm obiger Hgbn.-Lösung } um 2^h 15′ gemischt.
0,15 „ $^n/_1$-Essigsäure . . . }

In der Birne geschüttelt von 2^h 26′ bis ca. 2^h 46′ = ca. 20 Min.

Nach dem Schütteln: unverändert klar.

Gasgemisch . . . . 12,55 % O_2.

Gasanalyse aus der Birne . . I 12,5 } = 12,5 % O_2.
„ „ „ „ . . II — }

Temperatur: 21°. Druck: 750 mm.

Differentialmanometer I im Wasserbade bei 38,4°.

In die beiden Birnen 1,3 ccm Hgbn.-Lösung.

	Linke Birne: die zu untersuch. Hgbn.-Lösg.	Rechte Birne: die normale Hgbn.-Lösg.	Differenz	Bemerkung
Gleichgewicht bei	8,45	8,50	—	Nach dem Schütteln Lösung links etwas dunkler als rechts, aber klar
Nach dem Schütteln . .	8,78	8,03	0,80	
Kaliumferricyanid links verunglückt. Dafür Mittelwert bei Bestimmung I und II mit demselben Manometer benutzt			3,38	

Sättigung . . . . 76,4 % O_2

O_2-Druck . . . . 93,75 mm Hg

EMK vor dem Schütteln . 642,5 Millivolt 20°

P_H . . . . 6,77.

Aus diesen Versuchen geht demnach einwandfrei hervor, daß ganz geringgradige Verschiebungen in der Wasserstoffionenkonzentration einen sehr deutlichen Einfluß auf den Verlauf der Sauerstoff-Dissoziationskurve des Hämoglobins ausüben, und zwar so, daß bei steigender Acidität die prozentuelle Sauerstoffsättigung rapid abnimmt, wie aus Fig. 3 ersichtlich ist.

Die zuletzt angegebenen Protokolle zeigen, daß die Abnahme der prozentuellen Sauerstoffsättigung bei einer gewissen Wasserstoffionenkonzentration die maximale Größe annimmt, steigert man aber die Acidität noch weiter, so fängt auch die prozentuelle Sättigung derselben Hämoglobinlösung an, größer zu werden.

Bei verschiedenen Hämoglobinlösungen war die geringste Sauerstoffsättigung bei etwas verschiedener Acidität zu kon-

statieren. In den meisten Fällen war dieser Befund bei einer Wasserstoffionenkonzentration P_H = ca. 6,0 festzustellen. Von da an nahm die prozentuelle Sättigung nach der sauren Richtung hin etwa in ähnlicher Weise zu, wie sie vorher abgenommen hatte. Baut man eine O_2-Dissoziationskurve auf, die die prozentuelle O_2-Sättigung des Hämoglobins bei auf diese Weise gesteigerter Acidität, aber bei gleichbleibendem Sauerstoff-Partialdruck darstellt, so entsteht eine Linie etwa von der Form, wie Fig. 4 es zeigt. Leider konnten wir diesen interessanten

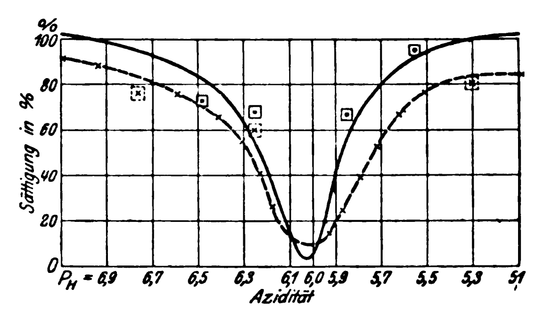


Fig. 4. Prozentuelle O_2-Sättigung des Hämoglobins bei steigender Acidität, aber konstantem O_2-Partialdruck bei 38°.

Befund durch weitere Versuche, die wir geplant hatten, des ausgebrochenen Krieges wegen nicht mehr beleuchten und bekräftigen.

Wie soll man nun diese eigentümlichen Verhältnisse der Sauerstoffbindung des Hämoglobins bei steigender Acidität erklären?

Am ehesten ließe sich diese eigentümliche Erscheinung, entsprechend den von Barcroft und Hill[1]) geäußerten Anschauungen, durch Entstehung von Molekülaggregaten erklären. Betrachten wir das Hämoglobin als einen Eiweißkörper von kolloidaler Natur, so können wir uns vorstellen, daß sich die einzelnen Hämoglobinmoleküle zuerst bei geringer Säurezufuhr teilweise zusammenballen. Dabei entsteht eine unsichtbare Fällung = Molekülaggregate, die naturgemäß insgesamt weniger Sauerstoff aufnehmen können als die freien Einzelmoleküle. Daher die anfängliche Erniedrigung der Dissoziationskurve des

---

[1]) Barcroftsche Monographie S. 51.

Hämoglobins, resp. die Herabsetzung der prozentuellen Sauerstoffsättigung bei geringeren Aciditäten. Steigert man aber dann immer noch die Acidität, so lösen sich die Molekülaggregate nochmals auf. Es entstehen durch den Zerfall der Molekülaggregate nochmals neue freie Hämoglobinteile, die, im Verhältnis zu ihrer Zahl, imstande sind, mehr Sauerstoff aufzunehmen. Daher die von uns konstatierte Steigerung der prozentuellen Sauerstoffsättigung des Hämoglobins bei weiterer Steigerung der Acidität.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß die prozentuelle Sauerstoffsättigung des Hämoglobins in auffallender Weise von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist, und zwar so, daß die prozentuelle Sauerstoffsättigung bei steigender Acidität immer kleiner wird, bzw. die Dissoziationskurve des Hämoglobins einen immer niedrigeren Verlauf nimmt, je größer die Wasserstoffionenkonzentration ist, wie Fig. 3 zeigt.

Die Herabsetzung der prozentuellen Sauerstoffsättigung des Hämoglobins geht aber nur bis zu einer bestimmten Acidität $P_H =$ ca. 6,0. Von da an beginnt das Hämoglobin bei steigender Wasserstoffionenkonzentration wieder mehr Sauerstoff aufzunehmen, d. h. die prozentuelle Sauerstoffsättigung des Hämoglobins fängt an, wieder größer zu werden. Diese Verhältnisse sind in der Fig. 4 graphisch ausgedrückt.

Als wahrscheinlichste Ursache dieses eigentümlichen Verhaltens des Hämoglobins bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen wird Entstehung und späteres Auflösen von Molekülaggregaten im Sinne von Barcroft und Hill angenommen.

Beitrag zur Frage der quantitativen Bestimmung der Phosphorsäure in pflanzlichen Materialien.

Von

As. Zlataroff.

(Aus dem Chemischen Institut der Universität Sofia.)

(Eingegangen am 4. Mai 1916.)

I. Einleitung.

Gelegentlich meiner Untersuchungen über die Zusammensetzung der reifen Früchte von Cicer arietinum[1] (Kichererbse) passierte mir bei der Bestimmung des Aschengehaltes ein unerwarteter Zufall: der Platintiegel, in welchem die Probe der fein zerriebenen Trockensubstanz der Kichererbse, ungefähr 5 g, verbrannt wurde, war durchgefressen. Die durchgefressenen Stellen hatten ein ganz charakteristisches Aussehen: sie hatten auf dem Boden des Tiegels einen Durchmesser von 2 bis 3 mm, waren von unregelmäßiger Form und hatten gequollene poröse Ränder. Ähnliche Defekte erhält man beim Verbrennen von rotem Phosphor auf Platinblech.

Ich hatte auch noch folgende Beobachtung gemacht. Beim Verbrennen von größeren Mengen von Kichererbsenmehl über dem Gebläse beginnen, sobald die Halbverkohlung erreicht ist, weiße Dämpfe sich zu entwickeln. Saugt man diese Dämpfe in einem Trichter mit feuchter Glaswolle und wäscht die Wolle mit destilliertem Wasser aus, so gibt das Waschwasser die für Phosphorsäure charakteristischen Reaktionen. Auch fand ich, daß die Menge des Phosphorpentoxyds, nach dem Verfahren von Neumann — Verbrennung in einem Gemisch gleicher Teile von konz. Schwefelsäure und konz. Salpetersäure — er-

[1] Zlataroff, Untersuchungen über die Zusammensetzung und Eigenschaften von Cicer arietinum L. Jahrbücher der Universität Sofia, 1912.

mittelt, nicht übereinstimmt mit dem Ergebnis der Aschenanalyse, die man nach Verbrennung von Kichererbsenmehl im Platintiegel vornimmt. In letzterem Fall kann sich ein bedeutend geringerer Prozentgehalt an Phosphorsäure ergeben.

Diese Befunde brachten mich zur Überzeugung, daß bei der gewöhnlichen Veraschung von pflanzlichen Materialien sich ein Teil der Phosphorsäure verflüchtigen kann. Das übliche Verfahren der Bestimmung der Phosphorsäure durch direkte Veraschung ist also, jedenfalls für bestimmte Materialien, ungenau.

Das Durchfressenwerden des Platintiegels bei der Verbrennung von Kichererbsenmehl beruht wahrscheinlich auf der Entstehung von Platinphosphid — bei der Verbrennung der Substanz wird augenscheinlich freier Phosphor gebildet.

In einer mündlichen Diskussion dieser Befunde wurde der Einwand erhoben, daß eine Verflüchtigung von Phosphorsäure bei der direkten Veraschung von Kichererbsenmehl unmöglich sei und daß entweder die Analyse oder die Berechnungen falsch sein müßten.

Es ist klar, daß diese Frage allein durch eigens darauf gerichtete Untersuchungen entschieden werden kann. Solange solche Untersuchungen nicht vorlagen, mußte Zweifel an der Zuverlässigkeit der Aschenanalyse bestehen, die ich bei direkter Veraschung der Substanz vorgefunden hatte. Sowohl in der deutschen Mitteilung über meine damaligen Untersuchungen an der Kichererbse[1]) und in einer späteren bulgarischen Arbeit[2]) ließ ich darum alle Angaben über die Zusammensetzung der Asche der Kichererbse weg.

Nun ist aber das vielgestaltige Problem des Phosphorsäurestoffwechsels der Pflanzen von größter Tragweite, und so gewinnt auch die aufgeworfene Frage nach der Zuverlässigkeit der Bestimmung der Phosphorsäure bei direkter Veraschung des pflanzlichen Materials an Bedeutung. Ich bin darum in einer Reihe von Untersuchungen dieser Frage nachgegangen.

Die Versuche wurden mit Unterstützung der Studenten

---

[1]) Zlataroff, Chemie und Mykologie der Frucht von Cicer arietinum L. Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel 26, 242, 1913.

[2]) Zlataroff, Phytobiochemische Studien. Jahrbücher der Universität Sofia 8, 1914.

ausgeführt. In den praktischen Übungen in der agrikulturchemischen und chemisch-technischen Analyse, die von Herrn Prof. Koluschki geleitet werden, wurden Proben von Kichererbsenmehl unter die Studenten verteilt, mit der Aufgabe, den Phosphorsäuregehalt der Proben nach Neumann und bei gewöhnlicher Veraschung des Materials zu bestimmen. Das Ergebnis einer ganzen Reihe systematischer Untersuchungen, die ich weiter unten besprechen werde, bestätigte meine Vermutung, daß bei der gewöhnlichen Veraschung von Kichererbsenmehl und pflanzlichen Materialien überhaupt Phosphorsäure sich verflüchtigen kann.

II. Experimenteller Teil.

A. Bestimmung der Phosphorsäure bei direkter Veraschung.

Die Probe wurde im Porzellantiegel verbrannt. Die graue Asche wurde gewogen und die Phosphorsäure in ihr in folgender Weise bestimmt. Zur Asche wurden 4 bis 5 ccm konz. Salzsäure hinzugefügt, worauf die Asche auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft wurde. Das wurde dreimal wiederholt, um das Silicium zu entfernen. Dann wurde zum trockenen Rückstand destilliertes Wasser hinzugefügt, mit Salpetersäure angesäuert und in einem Meßkolben von 250 ccm Inhalt filtriert. Darauf wurde mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Diese Lösung diente zur quantitativen Bestimmung der Phosphorsäure. In zwei Bechergläser von 400 ccm Inhalt wurden je 100 ccm der Lösung gebracht und auf dem Wasserbad bis zum halben Volumen eingedampft. Dann wurde die Fällung der Phosphorsäure nach Woy vorgenommen. Zur Lösung wurden 25 ccm Ammoniumnitratlösung und 15 ccm einer eigens hergestellten 25%igen Salpetersäure hinzugefügt und die Lösung über dem Drahtnetz bis zum Aufwallen erhitzt. Gleichzeitig wurden 60 ccm einer Lösung von Ammoniummolybdat bis zum Sieden erhitzt und dann unter ständigem Umrühren zur erhitzten Phosphorlösung gegeben. Nach $^1/_2$- bis 1 stündigem Stehen wurde die Flüssigkeit vom gebildeten Phosphorammoniummolybdat durch ein kleines Filter abgegossen. Der Niederschlag wurde gewaschen und abermals mit 50 ccm warmer Wasch-

flüssigkeit[1]) durch dasselbe Filter dekantiert. Der weitere Verlauf der Analyse war der von Treadwell angegebene. Die gewogene Menge $Mg_2P_2O_7$ entspricht dem Phosphorsäuregehalt in $^2/_5$ der veraschten Probe.

Das Ergebnis dieser Bestimmungen ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Tabelle I.

Asche in 5 g Substanz g	$Mg_2P_2O_7$ in 2 g Substanz g	P_2O_5 in 2 g Substanz g	P_2O_5 in der Asche (Asche = 2,88 % der Substanz) %
0,1441	0,0286	0,0182	31,60
0,1438	0,0290	0,0185	32,13
0,1439	0,0279	0,0178	30,92
0,1437	0,0281	0,0180	31,22
			Mittel: 31,22

B. Bestimmung der Phosphorsäure nach Neumann.

5 g der Substanz werden in der üblichen Weise nach Neumann zerstört. Nach völligem Erkalten der Flüssigkeit im Kolben wurden vorsichtig 50 ccm Wasser hinzugegeben, dann erhitzt und 15 Minuten lang im Siedezustand erhalten, um die Stickoxyde zu verjagen. Unter beständigem Kühlen wurde durch portionsweises Hinzufügen von konz. Ammoniak neutralisiert. Die neutral reagierende Flüssigkeit wurde durch ein Filter in einen Meßkolben von 100 ccm Inhalt übergeführt, wobei bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt wurde. Von dieser Lösung wurden 50 ccm nach Woy, wie bei Treadwell angegeben, verarbeitet.

Das Ergebnis dieser Bestimmungen ist in folgender Tabelle wiedergegeben:

Tabelle II.

Substanz g	$Mg_2P_2O_7$ in d. Hälfte der Probe g	P_2O_5 in der Hälfte der Probe g	P_2O_5 %	P_2O_5 in der Asche (Asche = 2,88 % der Substanz angenommen[2]) %
5,6612	0,0446	0,0285	1,005	34,89
5,2344	0,0407	0,0260	0,992	34,43
5,0844	0,0402	0,0256	1,007	35,00
5,2626	{0,0409 0,0416	0,0261 0,0265	0,999	34,69
		Mittel:	1,001	34,75

[1]) 200 g NH_4NO_3 werden in 4 l Wasser gelöst, zur Lösung werden 160 ccm HNO_3 hinzugefügt.

[2]) Vgl. Tabelle I.

Ein Vergleich von Tabelle I und II ergibt:

Tabelle III.

Methode	P_2O_5 im Mehl %	P_2O_5 in der Asche[1]) %
Neumann	1,001	34,75
Direkte Veraschung .	0,998	31,22

Bei der direkten Veraschung des Kichererbsenmehles wird somit ein beträchtlicher Teil der Phosphorsäure verflüchtigt. Genauere Resultate kann hier nur ein Verfahren geben, bei dem, wie bei der Bestimmung nach Neumann, den zu verbrennenden Prosben Substanzen hinzugefügt werden, die die Phosphoräure binden.

Unser Befund hat in den letzten Jahren durch einige von uns ganz unabhängige russische Arbeiten seine Bestätigung erfahren. So hat Karnowski[2]) darauf hingewiesen, daß bei der direkten Veraschung pflanzlicher Materialien sehr große Verluste an anorganischen Bestandteilen, wie Schwefel, Chlor, Kalium und Phosphor, eintreten. Wir müssen in Betracht ziehen daß auch bei höherer Temperatur der organisch gebundene Phosphor (z. B. in Form von Glycerinphosphorsäure im Lecithin) zum Teil einer Überführung in P_2O_5 widerstehen mag. Auch hat Tollens[3]) schon vor Jahren darauf hingewiesen, daß bei

[1]) Im Laufe von 4 Jahren habe ich zahlreiche Proben von Kichererbsen auf ihren Phosphorgehalt untersucht. Der letztere schwankt in ziemlich weiten Grenzen. In Samen mit einem Wassergehalt von etwa 10% und einem Aschengehalt von etwa 2,85% beträgt der Gehalt an P_2O_5 0,69 bis 1,03%. Auf die Asche berechnet, ergibt das einen Gehalt von 25 bis 35% P_2O_5. König (Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, S. 587) nimmt auf Grund der Zahlen von Passerini einen Gehalt von 39,56% P_2O_5 in der Kichererbse an. Für getrocknete Samen mit einem Aschengehalt von 3,29% ergibt das einen Gehalt von 1,192% P_2O_5. Selbstverständlich sind alle unsere Vergleichsanalysen mit Proben ein und desselben Mehles ausgeführt worden.

[2]) M. Karnowski, Über die quantitative Bestimmung des Kaliums und Phosphors in der Pflanze. Zeitschr. f. experim. Agronomie (russisch) 14, 1913.

[3]) Zit. nach Karnowski, l. c.

der Veraschung die P_2O_5 durch Kohlenteilchen leicht zu elementarem Phosphor reduziert werden kann, der sich bei höherer Temperatur leicht verflüchtigt.

Im Widerspruch zu Karnowski stehen C. von der Heide und S. Schwenk[1]) auf dem Standpunkt, daß bei der Veraschung des Weinextraktes keine Verluste von Phosphorsäure durch Verflüchtigung eintreten, wie das Erdmann angenommen hatte. Von der Heide und Schwenk haben eine Reihe von systematischen Untersuchungen über diese Frage ausgeführt, und sie sind der Meinung, daß es bei der Veraschung des Weinextraktes nicht nötig ist, Soda und Salpeter zur Probe hinzuzufügen.

Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß hier die Verbrennung des Weinextraktes nicht bis zur vollständigen Veraschung geführt wird: sobald die Substanz verkohlt ist, werden die Salze ausgezogen. So berühren die Befunde von v. d. Heide und Schwenk meine Schlußfolgerung nicht, daß ein Teil der Phosphorsäure bei der direkten Veraschung pflanzlicher Materialien verloren geht, indem P_2O_5 zu elementarem Phosphor reduziert und verflüchtigt wird. Übrigens haben auch König[2]) und Rolloff[3]) darauf hingewiesen, daß bei der direkten Veraschung von pflanzlichen Materialien Verluste von Phosphorsäure eintreten können.

C. Bestimmung der Phosphorsäure nach Karnowski und Rolloff.

Als das sicherste Verfahren für die Bestimmung des Kaliums und des Phosphors in pflanzlichen Materialien hat Karnowski[4]) die Verbrennung in direktem Feuer bei Anwesenheit von Schwefelsäure vorgeschlagen. Rolloff[5]) hat in einer Reihe von Analysen an Gerste, Stroh und Dünger zu zeigen versucht,

---

[1]) v. d. Heide und Schwenk, Zeitschr. f. analyt. Chem. 51, 615ff., 1912.

[2]) König, Untersuchung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel. 4. Aufl., 1910, S. 477.

[3]) Rolloff, Über die quantitative Bestimmung des Kaliums und des Phosphors in pflanzlichen Materialien. Zeitschr. f. experim. Agronomie (russisch) 15, 233, 1914.

[4]) l. c.

[5]) l. c.

daß die von Karnowski vorgeschlagene Methode von unbedingter Sicherheit ist. Die Autoren weisen darauf hin, daß durch die oxydierende Wirkung der Schwefelsäure die in den pflanzlichen Materialien enthaltene Phosphorsäure in Phosphorsäureanhydrid umgewandelt wird, d. h. in eine für die Analyse geeignete Verbindung, die bei schwachem Erhitzen in der Asche zurückbleibt. Nach Karnowski sind zu 5 g der pflanzlichen Substanz 3 bis 4 ccm konz. Schwefelsäure hinzuzugeben.

Ich habe nun die Angaben von Karnowski und Rolloff an der Hand von Analysen an Kichererbsenmehl geprüft, und auch diese Methode hat sich mir als ungenau erwiesen. Auch bei dieser Methode besteht, jedenfalls für bestimmte pflanzliche Materialien, die Gefahr eines Verlustes von Phosphorsäure, wie das Ergebnis meiner Analysen von Kichererbsenmehl zeigt:

Tabelle IV.

Substanz g	$Mg_2P_2O_7$ g	P_2O_5 g	P_2O_5 %
5,0000	a) 0,0842 b) 0,0840	0,0536	26,78
5,0000	a) 0,0861 b) 0,0857	0,0548	27,39

Die Werte für den Phosphorgehalt stehen weit hinter denjenigen zurück, welche die Analyse nach Neumann ergibt (vgl. Tabelle II). Die Schwefelsäure begünstigt die Verflüchtigung von Phosphorsäure bei der Veraschung des Kichererbsenmehls. Daraus ergibt sich, daß die Methode von Karnowski und Rolloff somit nicht zuverlässig genug ist, um für die quantitative Bestimmung von Phosphorsäure in pflanzlichen Materialien in Betracht zu kommen.

D. Das Verhalten der alkalischen Pyrophosphate beim Glühen.

Karaoglanoff[1]) hat gezeigt, daß Magnesiumpyrophosphat beim länger dauernden Glühen über dem Gebläse verflüchtigt wird. Das ist nach Karaoglanoff auf die Unbeständigkeit

[1]) Karaoglanoff, Gewichtsanalytische Bestimmung des Magnesiums. Jahrbücher der Universität Sofia 6, 30, 1911.

dieses Salzes zurückzuführen. Bei höherer Temperatur zerfällt es zum Teil nach der Gleichung

$$Mg_2P_2O_7 = 2\,MgO + P_2O_5,$$

wobei P_2O_5 verflüchtigt wird. Wenn Magnesiumpyrophosphat über einem gewöhnlichen Brenner erhitzt wird, so bleibt der Zerfall aus, und es kommt nicht zu Gewichtsverlusten.

Nun befindet sich der größte Teil der organisch gebundenen Phosphorsäure in den Pflanzen in Form von alkalischen Phosphaten. Es ist darum von Interesse, das Verhalten von Kaliumpyrophosphat beim Glühen zu untersuchen. Über meine auf diese Frage gerichteten Analysen orientieren die folgenden Tabellen:

Tabelle V.

Über dem gewöhnlichen Brenner.

Dauer des Erhitzens	$K_4P_2O_7$ g	Bemerkungen
—	0,4938	Im Porzellantiegel. Die Substanz blieb dauernd krystallinisch, ohne zu schmelzen.
1 Std.	0,4936	
1 „	0,4936	
—	0,5688	Im Platintiegel. Die Substanz schmolz und bildete nach dem Erkalten eine glänzende quarzähnliche Masse.
1 Std.	0,5685	
1 „	0,5681	
1 „	0,5679	
1 „	0,5676	

Tabelle VI.

Über dem Gebläse.

Dauer des Erhitzens	$K_4P_2O_7$ g	Bemerkungen
—	0,4936	Im Porzellantiegel.
1 Std.	0,4932	
1 „	0,4927	
1 „	0,4924	
—	0,6789	Im Platintiegel. Die letzten 2 Std. im elektrischen Ofen.
1 Std.	0,6784	
1 „	0,6780	
1 „	0,6776	
1 „	0,6770	
1 „	0,6772	
1 „	0,6678	

Aus den Tabellen geht hervor, daß Kaliumpyrophosphat, über dem gewöhnlichen Brenner im Porzellantiegel erhitzt, keine Gewichtsverluste erfährt. Im Platintiegel dagegen kommt es schließlich zu Gewichtsverlusten.

Recht beträchtlich werden die Gewichtsverluste beim Glühen des Kaliumpyrophosphats über dem Gebläse und im elektrischen Ofen.

Es ist darum wahrscheinlich, daß beim langdauernden Glühen der Asche von pflanzlichen Materialien ein Teil der Phosphorsäure verloren gehen kann. Allerdings kann dieser Verlust von Phosphorsäure durch die Anwesenheit von Carbonaten in der Asche vermieden werden.

E. Das Verhalten des Pyrophosphats beim Glühen mit Schwefelsäure.

Wie sub C. erwähnt, empfehlen Karnowski und Rolloff, Schwefelsäure zu den pflanzlichen Materialien, die verascht werden sollen, hinzuzufügen, weil auf diese Weise die Verflüchtigung von Phosphorsäure vermieden würde. In diesem Zusammenhang schien es von Interesse, das Verhalten reiner Pyrophosphate beim Glühen mit Schwefelsäure zu verfolgen.

Karaoglanoff[1]) ist schon früher dieser Frage nachgegangen, und er hat aus seinen Analysen den Schluß gezogen, daß die Reaktion zwischen Magnesiumpyrophosphat und Schwefelsäure nach folgender Gleichung vor sich geht:

$$Mg_2P_2O_7 + 2\,H_2SO_4 \rightleftarrows 2\,MgSO_4 + H_4P_2O_7 .$$

Nach Karaoglanoff sind somit bei einer bestimmten Temperatur genau definierte Mengen von unverändertem Magnesiumpyrophosphat, neugebildetem Magnesiumsulfat und Pyrophosphorsäure nebeneinander im Tiegel vorhanden. Beim Glühen dieser Mischung geht $MgSO_4$ in MgO über, Pyrophosphorsäure wird anhydriert, und Phosphor kann in Form von P_2O_5 verflüchtigt werden. So zeigt uns die Analyse eine verminderte Menge von Pyrophosphat an.

Ähnliche Versuche habe ich mit Kaliumpyrophosphat ausgeführt. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle VII, auf S. 227, enthalten:

Aus den gefundenen Werten ist zu ersehen, daß das Hinzufügen von H_2SO_4 zum Pyrophosphat bei der quantitativen Bestimmung der Phosphorsäure ungünstig wirkt. Das von

---

[1]) l. c.

Tabelle VII.

Geglühte Menge von $K_4P_2O_7$ g	Gefundene Menge von Pyrosulfophosphat g	Bemerkungen
	1. Versuch.	
0,5624	—	Platintiegel.
	0,6973 0,6968 0,6966	2 Std. im doppelten Tiegel geglüht.
	0,6969 0,6963	Nochmals H_2SO_4 hinzugefügt und je 1 Std. im doppelten Tiegel geglüht.
	0,5608 0,5003	1 Std. über dem Gebläse.
	2. Versuch.	
0,4988	—	Porzellantiegel.
	0,5558 0,5552	1 Std. im doppelten Tiegel.
	0,5548 0,5539	1 Std. über dem gewöhnlichen Brenner.
	0,5203 0,5026 0,4982	1/2 Std. über dem Gebläse.

Karnowski und Rolloff vorgeschlagene Verfahren ist also nicht zweckmäßig.

Wird Kaliumpyrophosphat mit H_2SO_4 geglüht, so wird Kaliumsulfat gebildet. Dieses wird im Gegensatz zu $MgSO_4$ bei höherer Temperatur nicht in das Oxyd verwandelt. Aus diesem Grunde ist der Gewichtsverlust beim Kaliumpyrophosphat nicht so beträchtlich wie beim Magnesiumpyrophosphat.

E. Bestimmung der Phosphorsäure in künstlichen Gemischen, die zur Nachahmung von Planzenmaterialien hergestellt wurden.

Es fragt sich nunmehr, in welchem Maße Phosphorsäure bei der Veraschung pflanzlicher Materialien verflüchtigt wird und welche Momente die Verflüchtigung unterstützen.

Um dieser Frage nachgehen zu können, habe ich zur Nachahmung pflanzlicher Materialien künstliche Gemische hergestellt, und zwar aus schwedischem Filtrierpapier, vollkommen reiner löslicher Stärke, aus organisch und anorganisch gebundener Phosphorsäure, deren Zusammensetzung mir bekannt war. Diese Gemische wurden unter verschiedenen Bedingungen

der Analyse unterworfen. Die Ergebnisse dieser Bestimmungen werde ich weiter unten besprechen.

Zur Bereitung der Gemische benutzte ich folgende Lösungen: 1. Na_2HPO_4 in destilliertem H_2O, 2. Lecithin in Alkohol, 3. K_2CO_3 in destilliertem H_2O. 10 ccm dieser Lösungen enthielten:

Tabelle VIII.

ccm	$Mg_2P_2O_7$ g	P_2O_5 g	Bemerkungen
10	0,0677	0,0432	Lösung von Na_2HPO_4 in destilliertem Wasser.
10	0,0673	0,0429	
	Mittel:	**0,0431**	
10	0,0494	0,0315	Alkohol. Lösg. von Lecithin (Mercks Lecithin. puriss. ex ovo), bestimmt nach Neumann.
10	0,0498	0,0318	
	Mittel:	**0,0317**	

6 Blatt Filtrierpapier wogen ungefähr 4,7 g und enthielten 0,0010 g Asche, in der ich keine Phosphorsäure nachweisen konnte. 5 g löslicher Stärke ergaben 0,0014 g Asche, in der sich ebenfalls keine Phosphorsäure fand.

Es wurden folgende Gemische von Stärke, Cellulose (schwedisches Filtrierpapier), saurem Natriumphosphat und Lecithin hergestellt:

1. Cellulose und Na_2HPO_4. — 6 Blatt Filtrierpapier wurden mit 10 ccm der Na_2HPO_4-Lösung getränkt, das Wasser wurde über einer schwachen Flamme zur Verdunstung gebracht und die zurückbleibende Masse der Analyse unterworfen. Das Ergebnis der Analysen, die nach verschiedenen Verfahren ausgeführt wurden, ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle IX.

Verfahren	$Mg_2P_2O_7$ g	P_2O_5 g	Differenz gegenüber der theoret. vorhand. Menge von P_2O_5
Neumann	a) 0,0681	a) 0,0434	+ 0,0003
	b) 0,0676	b) 0,0431	0
Veraschung im Porzellantiegel	a) 0,0663	a) 0,0423	— 0,0008
	b) 0,0668	b) 0,0426	— 0,0005
Veraschung im Porzellantiegel in Gegenwart von K_2CO_3 (10 ccm einer 1%igen Lösung)	a) 0,0674	a) 0,0430	— 0,0001
	b) 0,0678	b) 0,0432	+ 0,0001
		Theoret. vorhand. Menge von P_2O_5: **0,0431 g**	

2. Cellulose und Lecithin. — 6 Blatt schwedischen Filtrierpapiers und 10 ccm der Lecithinlösung ergaben folgende Werte:

Tabelle X.

Verfahren	$Mg_2P_2O_7$ g	P_2O_5 g	Differenz gegenüber der theoret. vorhand. Menge von P_2O_5
Neumann	a) 0,0496 b) 0,0498	a) 0,0316 b) 0,0318	— 0,0001 + 0,0001
Veraschung im Porzellantiegel	a) 0,0230 b) 0,0208	a) 0,0147 b) 0,0133	— 0,0170 — 0,0184
Veraschung im Porzellantiegel bei Gegenwart von K_2CO_3 (10 ccm einer 1%igen Lösung)	a) 0,0491 b) 0,0488	a) 0,0313 b) 0,0311	— 0,0004 — 0,0006
Veraschung im Platintiegel in Gegenwart von H_2SO_4 (3,5 ccm konz. H_2SO_4 in 10 ccm H_2O)	a) 0,0112 b) 0,0096	a) 0,0071 b) 0,0061	— 0,0246 — 0,0256
		Theoret. vorhand. Menge von P_2O_5: **0,0317 g**	

Aus den Tabellen VIII und IX ist zu ersehen, daß allein die Veraschung nach Neumann ganz zuverlässige Resultate gibt. Eine Beigabe von K_2CO_3 macht auch die Veraschung im Tiegel zu einer sicheren Methode. Sehr große Verluste ergeben sich bei der direkten Veraschung in Gegenwart von Schwefelsäure.

3. Cellulose, Na_2HPO_4 und Lecithin. — 3 Blatt Filtrierpapier und etwa 3 g Stärke, getränkt mit je 5 ccm der Na_2HPO_4- und Lecithinlösung, ergaben die folgenden Werte:

Tabelle XI.

Verfahren	$Mg_2P_2O_7$ g	P_2O_5 g	Differenz gegenüber der theoret. vorhand. Menge von P_2O_5
Neumann	a) 0,0585 b) 0,0590	a) 0,0373 b) 0,0376	— 0,0001 + 0,0002
Veraschung im Porzellantiegel	a) 0,0558 b) 0,0565	a) 0,0356 b) 0,0360	— 0,0018 — 0,0014
Veraschung in Gegenwart von K_2CO_3 (10 ccm einer 1%igen Lösg.)	a) 0,0587 b) 0,0582	a) 0,0374 b) 0,0371	0 — 0,0003
Veraschung in Gegenwart von H_2SO_4 (4 ccm konz. H_2SO_4 in 10 ccm H_2O)	a) 0,0552 b) 0,0549	a) 0,0352 b) 0,0350	— 0,0022 — 0,0024
		Theoret. vorhand. Menge von P_2O_5: **0,0374 g**	

Die Stärke ist erst nach 4stündigem Erhitzen über dem Teclubrenner vollständig verbrannt, während für die vollständige Veraschung von schwedischem Filtrierpapier $^3/_4$ Stunden genügen. Darauf beruht es wahrscheinlich, daß dieselbe Methode (direkte Veraschung) beim Stärkegemisch einen viel geringeren Wert für den Phosphorgehalt ergibt als beim Cellulosegemisch. Beim Veraschen der Stärkemischung findet wohl beim langsamen Verbrennen der Kohlenteilchen eine Reduktion und ein Zerfall von Phosphaten statt, wobei es in dem einen wie in dem anderen Fall zu einer Verflüchtigung von Phosphorsäure kommt.

F. Die Citratmethode.

Als ein schnelles Verfahren zur Bestimmung der Phosphorsäure in den veraschten Proben von pflanzlichen Mineralien empfiehlt Rolloff[1]) die Citratmethode[2]), die für die Analyse von Mineralien vorgeschlagen wurde. Zur Prüfung dieser Methode wurden von uns einige Bestimmungen (Doppelanalysen) im Kichererbsenmehl nach diesem Verfahren ausgeführt, wobei ich mich an die Vorschriften von Rolloff gehalten habe. Das Ergebnis dieser Bestimmungen ist in Tabelle XII enthalten:

Tabelle XII.

Substanz g	Asche g	$Mg_2P_2O_7$ g	P_2O_5 %	Bemerkungen
5,0000	0,1440	0,0611	27,05	Die Analyse wurde mit dem Rest des Materials ausgeführt, das für die Analysen in Tab. IV benutzt wurde.
3,7659	0,0928	0,0465	31,90	Direkte Veraschung.
5,0000	0,1424	0,0610	27,31	Veraschung bei Gegenwart von H_2SO_4 (3,5 ccm).

Wir sehen, daß die Citratmethode auch bei der Bestimmung der Phosphorsäure im Kichererbsenmehl befriedigende Resultate ergibt. Wegen der Schnelligkeit, mit der die Bestimmung bei dieser Methode auszuführen ist, erweist sie sich besonders dort als geeignet, wo es sich um Massenanalysen handelt.

---

[1]) Rolloff, Zeitschr. f. experim. Agronomie (russisch) **15**, 1914.

[2]) Die Beschreibung der Methode siehe bei König, **3**.

III. Zusammenfassung.

1. Bei der direkten Veraschung pflanzlicher Materialien ist stets mit der Gefahr einer Verflüchtigung von Phosphorsäure zu rechnen. Diese Gefahr ist um so größer, je länger die zur völligen Veraschung nötige Erhitzung dauern muß.

2. Die Hinzufügung von H_2SO_4 beschleunigt zwar die Veraschung, wobei jedoch die Carbonate zerstört werden, die in allen pflanzlichen Materialien enthalten sind. Dadurch wird eine Verflüchtigung von Phosphorsäure begünstigt, denn

3. Carbonate verhindern die Verflüchtigung von Phosphorsäure bei der Veraschung von pflanzlichen Materialien. Die Genauigkeit einer quantitativen Bestimmung der Phosphorsäure in pflanzlichen Materialien hängt in weitem Maße von ihrem Gehalt an Carbonaten ab.

4. Die von Karnowski und Rolloff vorgeschlagene Methode der Veraschung von pflanzlichen Materialien in Gegenwart von H_2SO_4 eignet sich ausgezeichnet, wenn es sich um die Bestimmung von Alkalimetallen in pflanzlichen Materialien handelt[1]).

5. Dort, wo es sich um eine genaue Bestimmung der Phosphorsäure in pflanzlichen Materialien handelt, z. B. bei rein wissenschaftlichen Untersuchungen, kommt allein die Zerstörung der organischen Substanz nach Neumann in Betracht. Die Methode von Neumann gibt bei der Bestimmung der Phosphorsäure in pflanzlichen Materialien vollkommen sichere Resultate.

6. Befriedigende Resultate gibt auch die Citratmethode, die dort zu empfehlen ist, wo es sich um Massenanalysen handelt.

---

[1]) Eigene, noch nicht veröffentlichte Untersuchungen.

Pharmakologische Untersuchungen über die Wirkung des Hypophysins.

(Zugleich eine Erwiderung.)

Von

Hermann Fühner.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Königsberg.)

(Eingegangen am 9. Mai 1916.)

Mit 7 Figuren im Text.

Seitdem ich[1]) im Jahre 1913 die Darstellung der wirksamen Substanzen der Hypophyse beschrieben habe, die als Sulfate in krystallisierter Form gewonnen und in Lösung unter der Bezeichnung „Hypophysin" von den Farbwerken vorm. Meister Lucius & Brüning in Höchst a. M. in den Handel gebracht werden, sind mehrere Arbeiten über denselben Gegenstand erschienen, auf die hier eingegangen werden soll. Zugleich mögen einige neuere Beobachtungen, die ich am Hypophysin machen konnte, an dieser Stelle wiedergegeben werden.

Vorausgeschickt sei, daß sich aus den Hypophysen vier in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften verschiedene basische Substanzen isolieren lassen, die einander in ihrer pharmakologischen Wirkung nahestehen und in ihrer Gesamtheit, an Schwefelsäure gebunden, als Hypophysin bezeichnet werden. Das Hypophysin wird in der Weise gewonnen, daß enteiweißte Extrakte aus dem Hinterlappen der Rinderhypophyse mit Phosphorwolframsäure gefällt werden. Der Niederschlag wird mit Baryt

[1]) H. Fühner, Die isolierten wirksamen Substanzen der Hypophyse. Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 11, S. 491. — Derselbe, Pharmakologische Untersuchungen über die wirksamen Bestandteile der Hypophyse. Zeitschr. f. d. ges. experim. Medizin **1**, 397, 1913.

zerlegt, der Baryt durch Schwefelsäure entfernt und die Lösung zur Krystallisation eingedampft. Es ist von anderer Seite (Popielski[1]) im Anschluß an meine Publikationen behauptet worden, daß die pharmakologisch wirksamen Bestandteile der Hypophyse nicht in der Fällung der Phosphorwolframsäure enthalten seien, sondern in dem Filtrat derselben. Ich[2]) habe gezeigt, daß die aus dem genannten Filtrat isolierbaren Produkte pharmakologisch nicht vollkommen unwirksam sind, daß aber die hauptsächliche Wirkung der Hypophyse auf Gebärmutter, Blutdruck und Atmung an die Basen der Phosphorwolframsäurefällung gebunden sind. Dasselbe gilt auch für die Darmwirkung. Ebenso scheint die Wirkung der Drüse auf den Zuckerstoffwechsel[3]), wie die therapeutisch wichtige Wirkung bei Diabetes insipidus[4]) vorwiegend durch dieselben Basen bedingt zu sein.

Die erste Untersuchung, die hier kurz besprochen werden soll, rührt von Baudouin[5]) her. Dieser extrahiert das getrocknete Material mit Alkohol, verdampft diesen, nimmt mit Wasser auf, fällt nucleinsäureartige Substanzen mit Essigsäure aus, entfernt die Essigsäure durch Äther, konzentriert im Vakuum und behandelt den Rückstand mit kochendem absoluten Alkohol. Aus dem Alkohol scheidet sich beim Erkalten ein krystallisiertes weißes Produkt aus, das am Menschen in der hohen Gabe von 6 bis 8 mg charakteristische Hypophysenwirkung besitzen soll. Auf diesem Wege läßt sich, wie der Autor übrigens auch selbst zugibt, nur ein Teil der wirksamen Substanzen gewinnen, er kann somit als ein rationeller nicht bezeichnet werden.

Dasselbe gilt für zwei weitere Methoden, die von Bouin

---

[1]) L. Popielski, Hypophysis und ihre Präparate in Verbindung mit ihren wirksamen Substanzen. Berl. klin. Wochenschr. **1913**, 1156.

[2]) l. c. und H. Fühner, Die Hypophyse und ihre wirksamen Bestandteile. Berl. klin. Wochenschr. **1914**, Nr. 6, S. 248.

[3]) Th. Stenström, Das Pituitrin und die Adrenalinhyperglykämie. Diese Zeitschr. **58**, 480, 1914.

[4]) G. Graul, Über einen mit Hypophysin-Höchst erfolgreich behandelten Fall von Diabetes insipidus. Deutsche med. Wochenschr. **1915**, 1095.

[5]) A. Baudouin, Sur la recherche du principe actif de l'hypophyse. Compt. rend. Soc. Biol. **74**, 1138, 1913.

und Ancel[1]) angegeben wurden. Sie sind im wissenschaftlichen Laboratorium der Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning in Höchst a. M. nachgeprüft worden, wobei sich herausstellte, daß die Methoden nicht nur äußerst umständlich und unpraktisch sind, sondern daß der größte Teil der wirksamen Substanzen durch die Art der Darstellung verloren geht.

Nach der ersten wie nach der zweiten Methode werden die Hinterlappen der Drüse erst 8 bis 10 Tage lang in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Äther (wohl zur Entfernung von Wasser und Fett) gelegt, alsdann getrocknet und zerrieben. Nach 3 tägigem Schütteln mit Wasser ohne Konservierungsmittel, wobei sicherlich Fäulnis der Drüsen und wohl auch Zersetzung der wirksamen Substanzen eintritt, wird das Filtrat mit ammoniakalischem Bleiessig versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Die Verfasser übersehen hierbei, daß durch Bleiessig nicht allein das Eiweiß, sondern auch ein Teil der wirksamen Substanzen mit gefällt wird, die durch Zersetzen des Bleiniederschlages mit Schwefelsäure isoliert werden können. Bei der weiteren Verarbeitung verstoßen B. und A. gegen das Höchster Patent, indem sie das Filtrat vom Bleiessigniederschlag mit Phosphorwolframsäure fällen. Den Niederschlag versuchen sie, darauf mit Bleihydrat zu zerlegen. Da das Bleihydrat aber eine zu schwache Base ist, um den Niederschlag vollständig zu zerlegen, so ist die Ausbeute an dem aus dem Filtrat erhaltenen Silbersalz äußerst gering, was auch erklärt, weshalb die Verfasser die Base aus dem Silbersalz nicht isoliert haben.

Nach der zweiten Methode, die bis zur Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlages mit Bleihydrat der ersten Methode gleicht, wird das Filtrat aus dem mit Bleihydrat behandelten Phosphorwolframsäureniederschlag zur Trockne eingedampft, wobei B. und A. die irrtümliche Ansicht vertreten, daß dieser Rückstand in Form seines schwefelsauren Salzes identisch sei mit „Hypophysin-Höchst“. Diese Ansicht ist aus dem Grunde falsch, weil, wie schon bei Beschreibung der

[1]) P. Bouin et P. Ancel, Sur un procédé d'isolement de la substance active du lobe postérieur hypophysaire. Compt. rend. Soc. Biol. 76, 62 und 110, 1914.

ersten Methode erwähnt, der größte Teil der wirksamen Substanzen dadurch verloren geht, daß ein Teil davon durch Bleiessig fällbar ist, während ein anderer sich noch in dem mit Bleihydrat ganz unvollständig zerlegbaren Phosphorwolframsäureniederschlag befindet. In dem Trockenrückstand ist daher nur ein geringer Anteil der wirksamen Substanzen in Basenform vorhanden. Bei dieser Gelegenheit kritisieren die Verfasser das Höchster Verfahren der Hypophysindarstellung, indem sie erklären, daß Mineralsäuren, besonders Schwefelsäure, einen sehr schädlichen Einfluß auf die wirksame Substanz ausüben. Demgegenüber ist zu bemerken, daß nach den Erfahrungen der Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning wohl ein Überschuß an Mineralsäuren den wirksamen Substanzen schädlich ist, aber nicht die zur Absättigung der Basen nötige Menge Schwefelsäure. Die Überführung der Basen in eines ihrer Salze ist absolut notwendig, da die Base, wie B. und A. selbst erkannt haben, sehr wenig haltbar ist, während die mineralsauren Salze, speziell das schwefelsaure Salz, unbegrenzte Haltbarkeit besitzen.

Der Trockenrückstand wird nach B. und A. durch zweimaliges je 12 stündiges Rühren, was der wirksamen Substanz sicherlich nicht förderlich ist, mit Methylalkohol gelöst und die konzentrierte methylalkoholische Lösung mit Äther gefällt. Nach dieser Methode wird wohl eine etwas bessere Ausbeute als nach der ersten erzielt, aber das erhaltene Produkt ist, wie B. und A. in ihrer Publikation zugeben, weder einheitlich noch chemisch rein. Sie verzichten darum wohl auch bei dieser Substanz auf eine Beschreibung ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften.

Eine dritte Publikation, die sich mit dem „wirksamen Prinzip der Hypophyse“ befaßt, rührt von Guggenheim[1]) her. Diese Arbeit ist sehr merkwürdig. In ihr werden alle von früheren Untersuchern angegebenen Methoden beschrieben und kritisiert; man erfährt aus derselben auch, daß der Verfasser selbst sich „seit längerer Zeit eingehend mit der Chemie der wirksamen Hypophysensubstanz beschäftigt hat“, und daß er

[1]) M. Guggenheim, Beitrag zur Kenntnis des wirksamen Prinzips der Hypophyse. Diese Zeitschr. 65, 189, 1914.

schließlich zu dem „Resultat“ gelangte, daß die „spezifischen Wirkungen“ des Hypophysenextraktes auf Gebärmutter, Blutdruck und Atmung, nicht auf mehrere Substanzen verteilt, sondern in erster Linie auf „eine spezifische Substanz“ zurückzuführen sind. Wie man aber diese Substanz gewinnen kann, wird verschwiegen. Es sind nun zwei Jahre vergangen, seit die genannte Arbeit erschienen ist, aber bis heute ist m. W. nichts Näheres über dieses einzige Hypophysenprinzip bekannt geworden, das sicherlich noch dadurch an Interesse gewinnt, daß sein Darsteller ein Jahr früher an anderer Stelle[1]) schrieb, er sei zu der Überzeugung gelangt, „daß die charakteristische Wirkung der Hypophysenextrakte nicht auf einer einzigen Substanz beruht“, daß dafür vielmehr „eine Anzahl wirksamer Prinzipien“ in Betracht kommen. Es ist freilich auch aus dieser älteren Publikation ebensowenig wie aus der späteren zu ersehen, auf Grund welcher experimentellen Tatsachen der Verfasser zu seiner jeweiligen Überzeugung gelangt ist.

Trotzdem sich somit bis heute keine Gelegenheit bietet, die Darstellung des Guggenheimschen Hypophysenprinzips und seine Wirkungen kritisch zu beleuchten, soll doch auf des Genannten Kritik des Hypophysin-Höchst hier eingegangen werden.

Da wird von Guggenheim zunächst hervorgehoben, daß man mit dem Höchster Verfahren der Phosphorwolframsäurefällung „wahllos“ fast sämtliche basischen Produkte ausfälle, die sich in der Lösung vorfinden, wie Cholin, Histidin, basische Aminosäuren, Amine, Ammoniaksalze und Peptone. Es fragt sich nur, sind denn diese Substanzen auch im Hypophysenextrakt und vor allem im Hypophysin-Höchst enthalten? Ohne Zweifel können solche Substanzen als Eiweißabbauprodukte in Hypophysenpräparaten vorkommen. Das hängt aber von deren Darstellung ab. Bei der fabrikmäßigen Herstellung des Hypophysins wird die Enteiweißung des noch keine Zersetzungsprodukte enthaltenden Hypophysenextraktes nicht durch Dialyse, wie das in der Höchster Patentschrift angegeben ist, sondern durch ein anderes, sehr rasch arbeitendes Verfahren

---

[1]) M. Guggenheim, Beitrag zur Kenntnis der Wirkung von Hypophysenextrakten (Pituglandol). Med. Klin. **1913**, Nr. 19.

bewerkstelligt, so daß die Bildung sekundärer Abbauprodukte durch bakterielle Tätigkeit völlig ausgeschlossen ist. Aminosäuren finden sich allerdings im Hypophysenextrakt. Aber dieselben gehen nicht in den Phosphorwolframsäureniederschlag, sondern sind in dem Filtrat desselben enthalten. Sicherlich sind im Hypophysin weder Peptone, noch p-Oxyphenyläthylamin, noch Histidin, noch Ammoniaksalze enthalten. Hingegen könnten kleine Mengen von Cholin, oder wahrscheinlicher von Substanzen, die ähnliche Reaktionen wie Cholin selbst geben, darin vorkommen; die therapeutische Wirkung wird hierdurch aber nicht beeinflußt.

Das einzig Positive, was wir in chemischer Hinsicht aus Guggenheims Arbeit über die wirksame Hypophysensubstanz erfahren, ist, daß dieselbe sehr alkaliempfindlich sein soll. Diese Entdeckung Guggenheims ist indes nicht neu. Ich habe die Alkaliempfindlichkeit in einer meiner Abhandlungen über den Gegenstand[1]) bei einem der Produkte besonders hervorgehoben, in einer andern[2]) habe ich auch erwähnt, daß die Hypophysensubstanzen bei der Zersetzung unwirksam werden. Da uns diese Alkaliempfindlichkeit, auch gegenüber Baryt, bekannt war, wurde bei der Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlages durch Barythydrat entsprechend vorsichtig verfahren, sodaß dabei keine stärkeren Verluste an wirksamer Substanz eintraten, wie dies am besten die nachstehenden Versuche zeigen.

Es wurde aus einer bestimmten Menge Hypophysenextrakt der Konzentration 1 ccm = 0,2 g frische Drüse die wirksame Substanz in Form des Hypophysins dargestellt. Das Produkt wurde in Wasser gelöst und auf das ursprüngliche Volum des Extraktes gebracht. Diese Hypophysinlösung (II) wurde dann am isolierten Rattenuterus, den Guggenheim für besonders geeignet zur Prüfung von Hypophysensubstanzen hält, in ihrer Wirksamkeit mit dem ursprünglichen Hypophysenextrakt (I) verglichen. Fig. 1 zeigt die Wirkung von je 1 ccm Extrakt und Hypophysinlösung an einem wenig empfindlichen Uterusstück. Fig. 2 die Wirkung von je $^1/_2$ ccm an einem empfindlicheren Objekt. Aus beiden Figuren ist zu erkennen, daß so

---

[1]) H. Fühner, Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. **1**, 400, 1913.
[2]) H. Fühner, Berl. klin. Wochenschr. **1914**, 248.

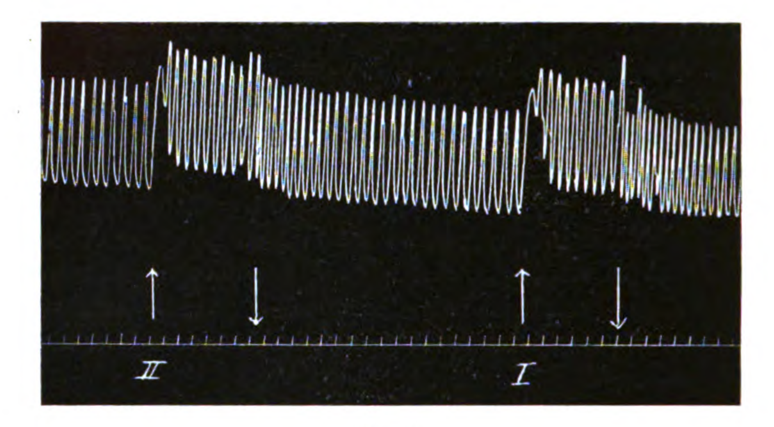


Fig. 1.
Ratte. Gebärmutterstück in Ringerlösung (100 ccm). Bei II 1 ccm Hypophysinlösung. Bei I 1 ccm Hypophysenextrakt. Zeit = Minuten.

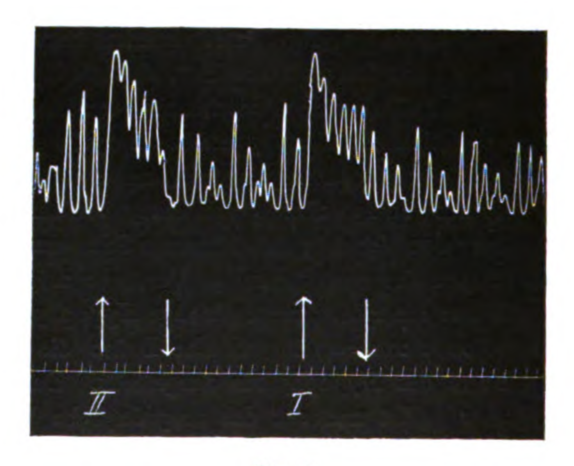


Fig. 2.
Ratte. Gebärmutterstück in Ringerlösung (100 ccm). Bei II $^1/_2$ ccm Hypophysinlösung. Bei I $^1/_2$ ccm Hypophysenextrakt. Zeit = Minuten.

gut wie kein Unterschied in der Wirkung beider Präparate besteht.

Damit ist der experimentelle Beweis erbracht, daß bei der Darstellung des Hypophysins aus Hypophysenextrakt ein nennenswerter Verlust an den therapeutisch in erster Linie wichtigen, auf die Gebärmutter wirkenden Substanzen nicht

eintritt. Dasselbe gilt nach meinen früheren Versuchen für die Blutdruckwirkung.

Es sei an dieser Stelle zurückblickend bemerkt, daß das Hauptstreben bei der Darstellung des Hypophysins dahin ging, die auf Gebärmutter und Blutdruck wirkenden Substanzen quantitativ aus dem Drüsenmaterial zu gewinnen, denn nur eine solche Methode kann als rationell bezeichnet werden, die das wertvolle Hypophysenmaterial möglichst ohne Verluste an wirksamer Substanz zu verwerten gestattet.

Im Anschluß an die erwähnte Beobachtung der Alkaliunbeständigkeit der wirksamen Hypophysensubstanzen bespricht Guggenheim weiterhin in seiner Arbeit die ähnliche Zersetzlichkeit von Pilocarpin und namentlich von Acetylcholin, und da diese Substanzen nach Guggenheims Vergleichung sich auch pharmakologisch ähnlich verhalten sollen, wie das „Hypophysenprinzip", so trägt er kein Bedenken, aus ihrer chemisch bekannten Konstitution auf eine ähnliche Konstitution des letzteren Schlüsse zu ziehen.

Dale[1]) hat seinerzeit die Wirkung des Hypophysenextraktes mit derjenigen der Nebennierensubstanz pharmakologisch verglichen, die ja — entgegen der eigentümlichen Behauptung von Guggenheim[2]) — gleichfalls sehr alkaliunbeständig ist. Er kam dabei zu dem Ergebnis, daß die Wirkungen der Sekrete beider Drüsen grundsätzlich verschieden sind. Es ist auch durchaus nicht uninteressant, die Hypophysensubstanzen, wie es Guggenheim tut und wie es weiter unten eingehender geschehen soll, mit dem Pilocarpin und den Cholinestern pharmakologisch zu vergleichen. Ähnlich wie für Suprarenin (Adrenalin) und Hypophysin ergibt sich auch hier bei oberflächlicher Betrachtung einige Ähnlichkeit. Eine eingehendere Vergleichung aber lehrt, daß gerade die für die Hypophysensubstanzen charakteristischen Eigenschaften den Cholinestern wie dem Pilocarpin vollkommen fehlen. Wollte man daraus Schlüsse auf die Konstitution der Hypophysensubstanzen ziehen, so käme man gerade zu dem entgegengesetzten Ergebnis wie Guggenheim,

---

[1]) H. H. Dale, The action of extracts of the pituitary body. Biochem. Journ. 4, 427, 1909.

[2]) M. Guggenheim, diese Zeitschr. 65, 198, 1914.

nämlich, daß bei der Verschiedenheit der Wirkung auch die chemische Konstitution eine verschiedene sein muß! Aber ich halte derartige Rückschlüsse bei dem Wenigen, was wir heute in chemischer Hinsicht über die Hypophysensubstanzen wissen, überhaupt für unstatthaft und den Versuch Guggenheims in dieser Richtung für verfehlt.

Schon von Anfang meiner Untersuchung über die Hypophysensubstanzen an hatte ich dieselben mit einem Cholinester, dem Cholinmuscarin (synthetisches Muscarin Schmiedeberg. Nitrosocholin Dale), verglichen, und zwar aus dem Grunde, um etwaige Wirkung von Fäulnissubstanzen neben der eigentlichen Hypophysenwirkung erkennen zu können. Bei der Eiweißfäulnis entstehen bekanntlich unter Umständen Produkte mit Muscarinwirkung, die dadurch charakterisiert sind, daß sie durch geringste Atropindosen antagonistisch beeinflußt werden. Ich hatte, und zwar unabhängig von Dale, der diese Beobachtung allerdings schon viel früher gemacht hat, gefunden, daß die Hypophysenwirkung verhältnismäßig wenig durch Atropin gehemmt wird. Leichte Atropinisierung gibt also die Möglichkeit, die spezifische Uteruswirkung der Hypophysensubstanzen von der des Cholins, Cholinmuscarins, Acetylcholins und Pilocarpins zu unterscheiden, und diese Tatsache bildet eine scharfe Grenze zwischen den Hypophysensubstanzen und den genannten. Größere Atropinmengen hemmen — im Gegensatz zu den Angaben von Dale — allerdings auch die Hypophysenwirkung am isolierten Uterus[1]).

Fig. 3 illustriert das Gesagte in einer am Meerschweinchenuterus erhaltenen Kurve. Verglichen ist hier Pilocarpin und Hypophysin, und zwar aus dem Grunde, weil beide Substanzen am isolierten Meerschweinchenuterus etwa dieselbe Wirksamkeit normal besitzen, während das Acetylcholin etwa 20 mal wirksamer ist. Auf 100 ccm Ringerlösung genügt die Menge von $^1/_{100}$ mg Atropinsulfat, um die Wirkung von $^1/_{200}$ mg und mehr Acetylcholin, $^1/_{10}$ mg Cholinmuscarin und, wie die Kurve zeigt, von $^1/_{10}$ mg Pilocarpinchlorhydrat vollkommen zu unterdrücken,

[1]) Vgl. hierzu auch: T. Sugimoto, Pharmakologische Untersuchungen am überlebenden Meerschweinchenuterus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 74, 32, 1913.

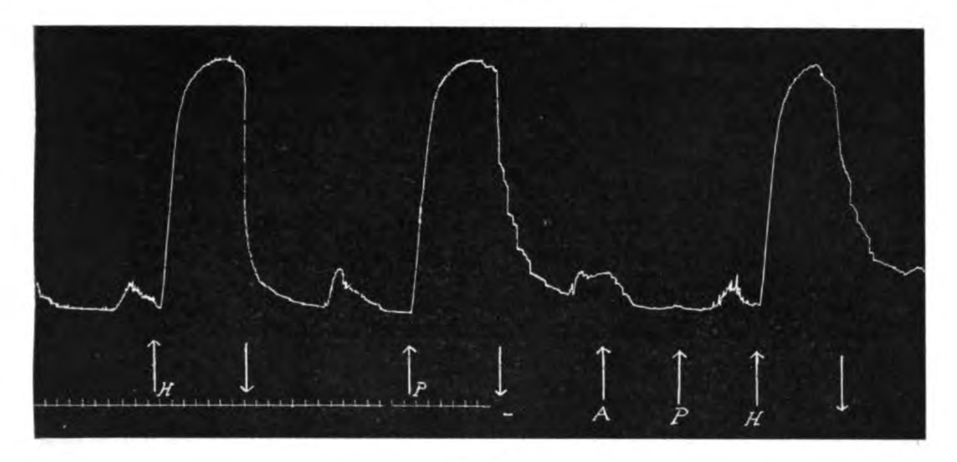


Fig. 3.

Meerschweinchen. Gebärmutterstück in Ringerlösung (100 ccm). Bei H $^1/_{10}$ mg Hypophysin. Bei P $^1/_{10}$ mg Pilocarpinchlorhydrat. Bei A $^1/_{100}$ mg Atropinsulfat. Zeit = Minuten.

während die später gegebene Menge von wiederum $^1/_{10}$ mg Hypophysin noch die volle Wirksamkeit wie zuvor besitzt.

Als weiteres Charakteristikum der Wirkung der Hypophysensubstanzen möchte ich ihre außerordentlich schwankende und wechselnde Wirkung bezeichnen, die sich vielleicht weniger an isolierten Meerschweinchen-, als an Kaninchen- und Katzenorganen — Darm und Gebärmutter — zeigt. Es ist durchaus regelmäßig, daß, wenn ein Darm- oder Gebärmutterstück gut auf Pilocarpin anspricht, dies auch der Fall ist für Cholinmuscarin und Acetylcholin, wobei die Wirkungsstärke der ersten beiden ungefähr dieselbe, die von Acetylcholin, wie oben bemerkt, 20 mal größer ist. Eine bestimmte Wirkungsstärke des Hypophysins gegenüber diesen Substanzen gibt es nun nicht. Man findet Organstücke, die sehr gut, andere, die sehr schlecht auf Hypophysin ansprechen. Für das Zustandekommen einer kräftigen Hypophysinwirkung erscheint eine besonders gute, zugleich aber spezifische Anspruchsfähigkeit des betreffenden Organs Voraussetzung. Gute Anspruchsfähigkeit gegenüber der Pilocarpin-Muscaringruppe schließt jedenfalls nicht die gegen Hypophysin in sich. Es erinnert dies schwankende Verhalten des Hypophysins an das des Guanidins am Skelettmuskel des Frosches: Zum Auftreten der fibrillären Zuckungen an einem

in Guanidinlösung eingelegten Froschmuskel gehört eine gewisse gute Anspruchsfähigkeit desselben.

Aber nicht nur quantitativ ist das Verhalten des Hypophysins an den isolierten glattmuskeligen Organen ein wechselndes, sondern auch qualitativ: Während der Meerschweinchendarm bei Zugabe der Hypophysinlösung zur Tyrodelösung, in der das Darmstück aufgehängt ist, meist sofort mit einer Tonussteigerung antwortet, zeigt sich am Kaninchendarm

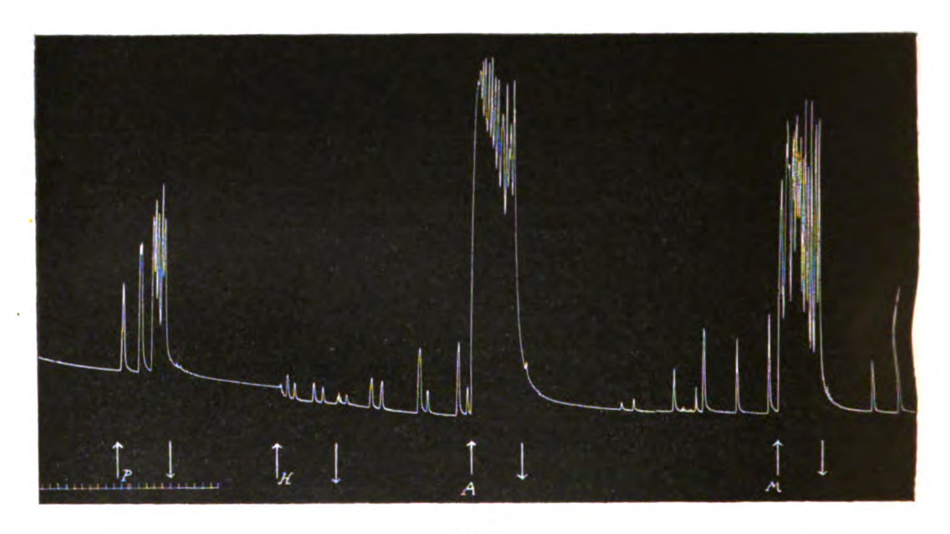


Fig. 4.

Katze. Dickdarmstück in Tyrodelösung (150 ccm). Bei P $^1/_{10}$ mg Pilocarpinchlorhydrat. Bei H 1 mg Hypophysin. Bei A $^1/_{100}$ mg Acetylcholin. Bei M $^1/_{10}$ mg Cholinmuskarin. Zeit = Minuten. $^1/_2$ Originalgröße.

unter den gleichen Bedingungen oft erst eine vorübergehende Hemmung der Darmtätigkeit, auf die dann die tonische Kontraktion folgt. Die hemmende Wirkung ist verschieden an Dünn- und Dickdarmstücken. Ich fand sie am meisten ausgeprägt am Katzendickdarm, bei dem die erregende Wirkung gegenüber der hemmenden fast vollkommen verschwindet. Fig. 4 zeigt die Wirkung des Hypophysins an einem Stück Katzendickdarm. Die hier Tonusabfall bewirkende Gabe von 1 mg Hypophysin auf 150 ccm Tyrodelösung bewirkt am gut ansprechenden Meerschweinchen- und Kaninchendarm starken Tonusanstieg. Die wiedergegebene Kurve zeigt zugleich, wie

verschieden die Darmwirkung der wirksamen Hypophysensubstanzen von der des Pilocarpins, Acetylcholins und Cholinmuscarins sein kann.

Auch die Atmungswirkung der Hypophysenextrakte und des Hypophysins zeigt nur entfernte Ähnlichkeit mit der des Acetylcholins und seiner Verwandten. Für die rohen Hypophysenextrakte und das Hypophysin ist im Versuch am Kaninchen, wie ich[1]) dies früher beschrieben habe, ein mehrmaliges Aussetzen der Atmung charakteristisch. Bei großen Hypophysindosen kann dadurch die Atmung vorübergehend dem Cheyne-Stokesschen Typus ähnlich werden[2]). Bei kleineren Gaben beobachtet man meist einen zweimaligen Atemstillstand. Nur der primäre, durch kleine Atropingaben aufzuhebende Atemstillstand findet sich auch beim Acetylcholin. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dieser erste Atemstillstand der Hypophysenextrakte und des Hypophysins auf einen Cholingehalt der Präparate zurückzuführen ist. Ich erachte, im Gegensatz zu Fröhlich und Pick[3]), in erster Linie diejenigen Hypophysenwirkungen für charakteristisch, die nach leichter Atropinisierung noch vorhanden sind: Dies ist bei der Atmung der mit der einsetzenden Blutdrucksteigerung beginnende zweite Atemstillstand, wie ihn Fig. 5 zeigt, in welcher der erste Stillstand durch die Atropingabe unterdrückt wurde. Daß diese Atmungswirkung sich beim Suprarenin (Adrenalin) wiederfindet, hindert nicht, daß sie für die Hypophysensubstanzen charakteristisch ist.

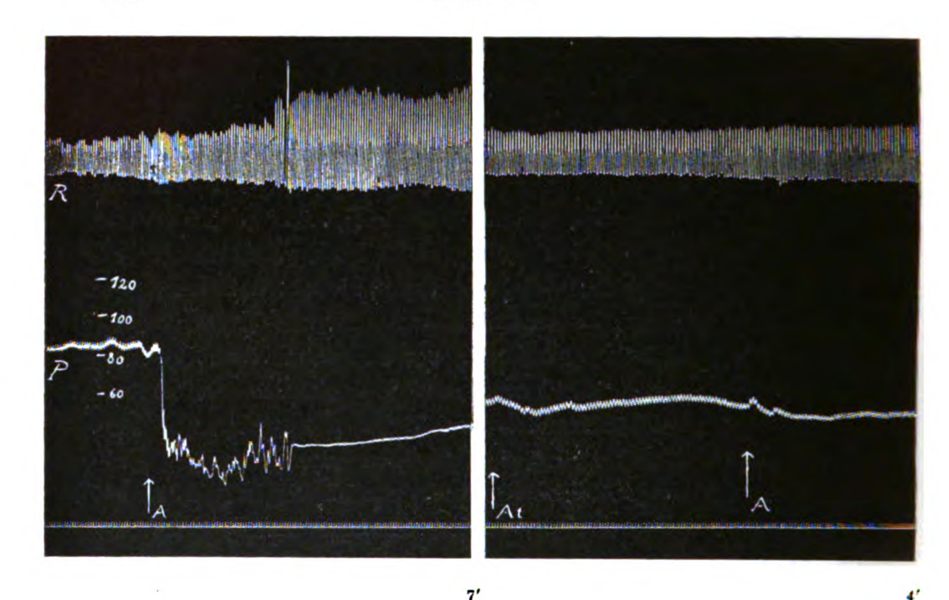
Im übrigen ist die Atmungswirkung des Acetylcholins in Gaben, die den Blutdruck schon stark herabdrücken, nur eine geringe. Bei der Dose von $^1/_{100}$ mg Acetylcholin an mittelgroßen mit Urethan (1 g pro Kilogramm) narkotisierten Kaninchen sah ich sie (vgl. Fig. 5) überhaupt nicht. Gaben von

---

[1]) H. Fühner, Das Pituitrin und seine wirksamen Bestandteile. Münch. med. Wochenschr. **1912**, 853. — O. Pankow, Über die Wirkungen des „Pituitrin" (Parke Davis & Co.) auf Kreislauf und Atmung. Arch. f. d. ges. Physiol. **147**, 89, 1912 und H. Fühner, l. c.

[2]) H. Fühner, l. c. in Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. **1**, 405, Fig. 3.

[3]) A. Fröhlich und E. P. Pick, Zur Kenntnis der Wirkungen der Hypophysenpräparate. I. Mitteilung: Wirkung auf Lunge und Atmung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **74**, 98, 1913.



7' 4'

Fig.

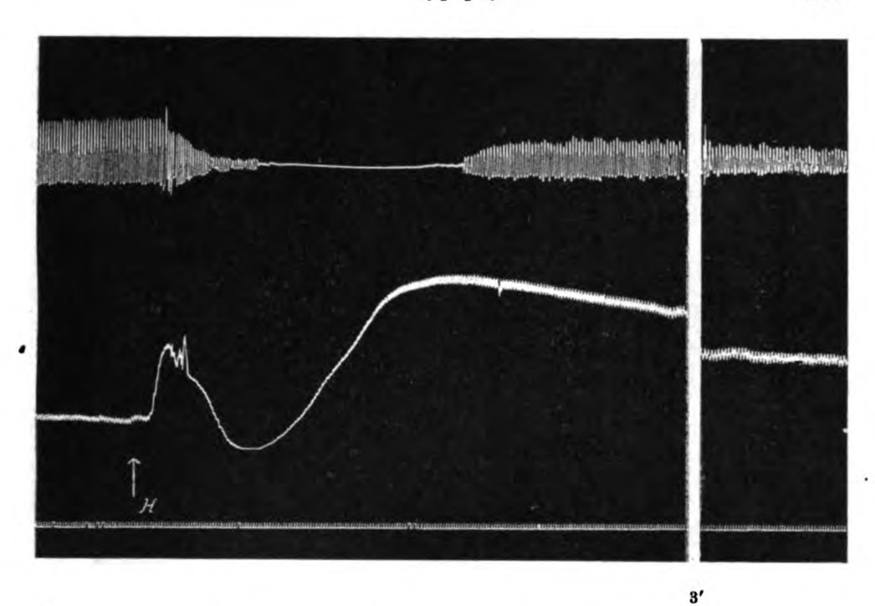
Kaninchen. Blutdruck (P) und Atmung (R). Bei A $^{1}/_{100}$ mg Acetylcholin. Bei At 1 mg
Zeit = Sekunden.

$^{1}/_{10}$ mg der Substanz bewirkten in meinen Versuchen lange anhaltenden Stillstand der Atmung, dabei aber derartig starken Abfall des Blutdrucks, daß die Tiere sich nur mit Mühe wieder erholten oder eingingen.

Das für die Atmung Gesagte gilt zum Teil auch für den Blutdruck und die Herzwirkung. Acetylcholin und die ihm in ihrer Wirkung nahestehenden Substanzen verursachen intravenös am narkotisierten Kaninchen lediglich eine Blutdrucksenkung, die, wie Fig. 5 zeigt, leicht durch Atropin verhindert werden kann. Blutdrucksteigerung bewirkt Acetylcholin nicht. Aber gerade die lange anhaltende Blutdrucksteigerung, die, im Gegensatz zur Wirkung des Suprarenins, nicht wiederholt nacheinander erhalten werden kann, ist charakteristisch für die Hypophysensubstanzen.

Besonders auffällig ist dann der enorme Unterschied in der Wirkungsstärke von Acetylcholin und Hypophysin am isolierten Froschherzen.

Fig. 6 und 7 zeigen Kurven, die von isolierten, an einer Kanüle festgebundenen Herzen von Wasserfröschen gewonnen



5.
Atropinsulfat. Bei H 1 mg Hypophysin. 1½ Minuten vor diesem: 2. Atropindose von 1 mg. ½ Originalgröße.

wurden, die mit einem Inhalt von etwa ½ ccm Ringerlösung pulsierten. An empfindlichen Herzen bewirkt die Konzentration von 1 : 10 Millionen Acetylcholin rasch diastolischen Stillstand, während dazu von Hypophysin Konzentrationen von 1 : 10 000 und stärkere nötig sind. Das Acetylcholin ist am Froschherzen mehr wie 1000 mal wirksamer als Hypophysin. Schon eine Atropinkonzentration 1 : 10 Millionen, die einige Zeit in den Herzen belassen wird, hebt die Wirkung des Acetylcholins genannter Konzentration vollständig auf, während die Wirkung von Hypophysin in der Konzentration 1 : 1000 nicht beinträchtigt wird (Fig. 7). Durch eine Atropinkonzentration 1 : 1 Million wird dagegen die herzhemmende Wirkung von Hypophysin 1 : 10 000 meist abgeschwächt (Fig. 6). Vielleicht ist auch hier der Teil der Wirkung, der durch geringe Atropingaben antagonistisch beeinflußbar ist, auf etwaigen Cholingehalt des Hypophysins zurückzuführen.

Endlich fehlt die wichtige sekretionsfördernde Wirkung der Pilocarpin-Cholinestergruppe auf Speichel- und Schweißdrüsen, die bei dem leicht zersetzlichen Acetylcholin immer-

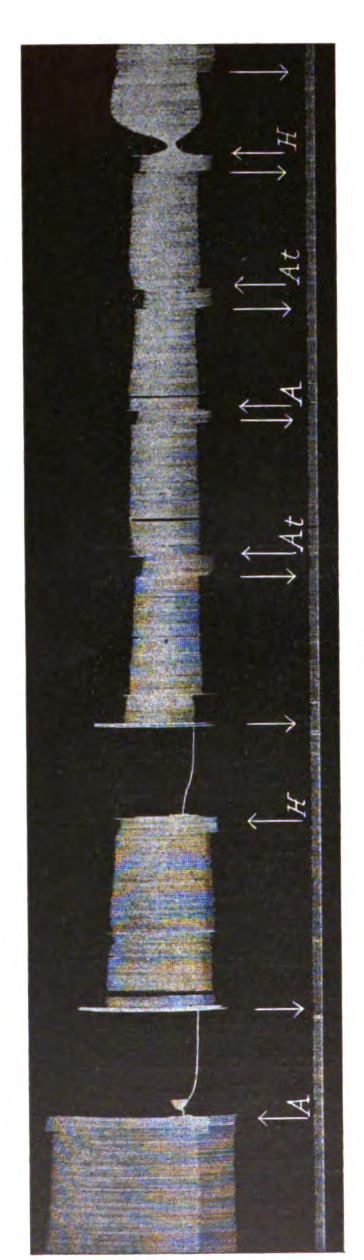


Fig. 6.
Wasserfrosch. Isoliertes Herz. Bei A Acetylcholin 1:10 Millionen. Bei H Hypophysin 1:10 Tausend. Bei At Atropin 1:1 Million. Zeit = Sekunden.

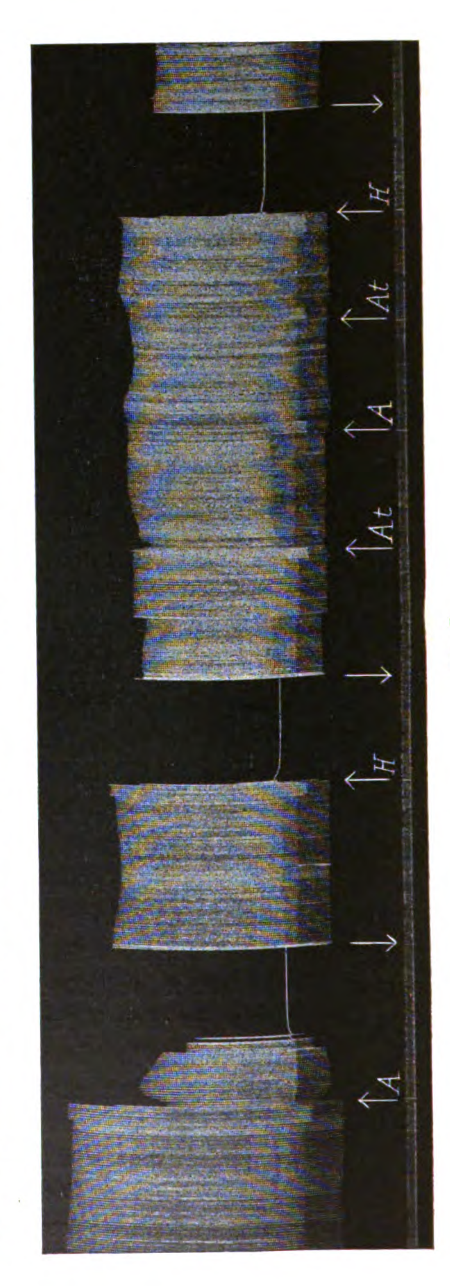


Fig. 7.
Wasserfrosch. Isoliertes Herz. Bei A Acetylcholin 1:10 Millionen. Bei H Hypophysin 1:1000. Bei At Atropin 1:10 Millionen. Zeit = Sekunden.

hin nachweisbar ist, den rohen Hypophysenextrakten wie dem Hypophysin vollkommen.

Ergebnisse.

1. Bei der Darstellung des Hypophysins aus Hypophysenextrakten treten größere Verluste an den therapeutisch wichtigen, auf die Gebärmutter und den Blutdruck wirkenden Substanzen der Drüse nicht ein.

2. Eine Vergleichung von Hypophysin mit Pilocarpin und den Cholinestern ergibt durchgreifende Unterschiede in den Wirkungen auf die verschiedenen Organe. Ein allgemeiner Unterschied besteht namentlich darin, daß die letztgenannten Substanzen schon durch geringste Atropingaben antagonistisch beeinflußt werden, was bei dem Hypophysin nicht der Fall ist.

3. Es ist von anderer Seite behauptet worden, die Ähnlichkeit der Wirkung von Cholinestern (Acetylcholin) und Hypophysensubstanz sei eine so weitgehende, daß für die letztere eine den genannten Estern ähnliche chemische Konstitution zu vermuten sei. Da die behauptete pharmakologische Wirkungsähnlichkeit in der Tat aber nicht vorhanden ist, werden hierauf aufgebaute Schlüsse über die Konstitution des „Hypophysenprinzips" hinfällig.

Vergleichende Untersuchungen über den respiratorischen Stoffwechsel bei leichter Muskelarbeit von normalen und anämischen Menschen.

Von

Shigeshi Kakehi.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 9. Mai 1916.)

Mit 26 Tabellen und 1 Figur im Text.

Einleitung.

Durch eine große Anzahl neuerer Untersuchungen hat man angefangen, die Anschauungen, die früher über die Beziehung zwischen Muskeltätigkeit und Sauerstoffverbrauch herrschten, sehr wesentlich zu modifizieren. Um aber zu gut begründeten neuen Vorstellungen zu gelangen, bedarf es vielseitiger experimenteller Untersuchungen auf einer möglichst breiten Basis.

Hierzu sollen die nachfolgenden Untersuchungen, die ich auf Anregung von Prof. Asher ausgeführt habe, einen Beitrag liefern. Dieselben bezwecken, den Sauerstoffverbrauch und daneben die Kohlensäurebildung bei normalen und anämischen Menschen zu vergleichen, wenn dieselben veranlaßt werden, eine leichte Muskelarbeit auszuführen.

Mit dieser Fragestellung wird gleichzeitig das Problem des respiratorischen Stoffwechsels bei Anämie überhaupt mit in die Diskussion einbezogen, was uns erwünscht schien, da das Berner physiologische Institut in den Besitz eines Jaquetschen Respirationsapparates für langdauernde Versuche gelangt war. An langdauernden Versuchen an Anämikern hat es aber mit Aus-

nahme der kürzlich erschienenen Versuche von Grafe[1]) vollständig gefehlt.

Es dürfte von einigem Interesse sein, ehe ich auf meine eigenen Untersuchungen eingehe, einen kurzen Überblick über dasjenige zu geben, was in der Literatur von dem respiratorischen Stoffwechsel bei Anämie vorliegt.

Über den Einfluß der künstlichen Blutentziehung auf den respiratorischen Stoffwechsel wurden Versuche zuerst von Bauer[2]) und Finkler[3]) und dann von Lukjanow[4]), Frédéricq[5]), Gürber[6]), Pembrey und Gürber[7]) usw. angestellt. Obgleich die einzelnen Versuche nicht unbeträchtliche Schwankungen aufweisen, kann man doch aus diesen Versuchen den Schluß ziehen, daß eine Beeinflussung des Gaswechsels durch selbst erhebliche Blutverluste nicht stattfindet.

Ferner haben Pettenkofer und Voit[8]), Kraus und Chvostek[9]), Meyer[10]), Kraus[11]), Bohland[12]), Thiele und Mehring[13]) usw. den

[1]) E. Grafe, Zur Kenntnis des Gesamtstoffwechsels bei schweren chronischen Anämien des Menschen. Arch. f. klin. Med. **118**, 148, 1915.

[2]) J. Bauer, Über die Zersetzungsvorgänge im Tierkörper unter dem Einflusse von Blutentziehungen. Zeitschr. f. Biol. **8**, 567, 1872.

[3]) D. Finkler, Über den Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit und Menge des Blutes auf die tierische Verbrennung. Arch. f. d. ges. Physiol. **10**, 368, 1875.

[4]) S. Lukjanow, Über die Aufnahme von Sauerstoff bei erhöhtem Prozentgehalt desselben in der Luft. Zeitschr. f. physiol. Chem. **8**, 313, 1884.

[5]) L. Frédéricq, De l'action physiologique des soustractions sanguines. Travaux du laboratoire **1**, 297, 1886.

[6]) A. Gürber, Über den Einfluß großer Blutverluste auf den resp. Stoffwechsel. Sitzungsber. d. physik.-med. Ges. zu Würzburg **1892**, Nr. 5, 72.

[7]) M. S. Pembrey and A. Gürber, On the influence of bleeding and transfusion upon the respiratory exchange. Journ. of Physiol. **15**, 449, 1894.

[8]) M. v. Pettenkofer und C. Voit, Über den Stoffverbrauch bei einem leukämischen Manne. Zeitschr. f. Biol. **5**, 319, 1869.

[9]) Fr. Kraus und Fr. Chvostek, Über den Einfluß von Krankheiten auf den resp. Gaswechsel und über Sauerstofftherapie. Wiener klin. Wochenschr. **1891**, Nr. 33, 605.

[10]) R. Meyer, Über den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureausscheidung bei den verschiedenen Formen der Anämie. Inaug.-Diss. Bonn 1892.

[11]) Fr. Kraus, Über den Einfluß von Krankheiten, besonders von anämischen Zuständen, auf den respiratorischen Gaswechsel. Zeitschr. f. klin. Med. **22**, 581, 1893.

[12]) K. Bohland, Über den respiratorischen Gaswechsel bei verschiedenen Formen der Anämie. Berl. klin. Wochenschr. **1893**, Nr. 18, 417.

[13]) O. Thiele und O. Mehring, Untersuchungen des respiratorischen Gaswechsels unter dem Einflusse von Thyreoideapräparaten und bei anämischen Zuständen des Menschen. Zeitschr. f. klin. Med. **30**, 41, 1896.

Einfluß der verschiedenen Formen von Anämie auf den respiratorischen Stoffwechsel untersucht. Tatsächlich fanden sie aber den Gaswechsel auch bei schweren Anämien vollständig im Bereich der Norm. In einigen Fällen konstatierte man wesentlich höhere Werte für die Kohlensäureausscheidung und den Sauerstoffverbrauch (Meyer und Bohland). „Wenn man jedoch berücksichtigt, wie Jaquet[1]) betont, daß die meisten dieser Individuen eine erhöhte Puls- und Respirationsfrequenz haben, daß sie ferner meist erregbar sind und bei den Versuchen unruhig werden, so wird man das Ergebnis in erster Linie diesen Faktoren zuschreiben.“ Jedenfalls ist aber durch diese Versuche die frühere Annahme einer mangelhaften Versorgung des Organismus mit Sauerstoff bei anämischen Zuständen als widerlegt zu betrachten.

Wie ich schon oben erwähnte, ist der Einfluß der Körperbewegung und der Muskelarbeit auf den Gaswechsel bei Anämie noch wenig bearbeitet worden.

Allerdings hat schon Kraus und Chvostek den Gaswechsel anämischer Menschen bei Körperbewegungen untersucht und denselben größer gefunden als in der Ruhe, wie kaum anders zu erwarten war. Jedenfalls beobachteten sie[2]) keineswegs die gleichen Steigerungen wie bei Gesunden. Es ist zu bemerken, daß die Untersuchung von Kraus und Chvostek mit Hilfe der Methodik von Zuntz und Geppert ausgeführt wurde, die nur kurzdauernde Versuche anzustellen gestattet. Es ist klar, daß wie bei anderen Fragen des Stoffwechsels länger dauernde Versuche dringend erwünscht sind. Denn es könnte ganz gut sein, daß während kurzer Perioden ein Unterschied zwischen normalen und anämischen Menschen nicht besteht, daß jedoch ein Unterschied zutage treten könnte, wenn die Versuche über längere Zeitperioden sich erstrecken. Von der Hand läßt sich diese Betrachtung ohne direkt darauf gerichtete Versuche deshalb nicht weisen, weil bekannt ist, daß alle Anämischen ihre körperlichen Leistungen auf das geringste Maß einschränken. Krehl[3]) schreibt: „Sie vermeiden jede nicht ganz notwendige Bewegung, und, wenn ihr Gaswechsel normal groß gefunden wurde, so gilt dies natürlich nur für die Ruhe. Wie wenig Anämische stärkeren Anforderungen gegenüber leistungsfähig sind, ist ja jedem Arzte bekannt.“

Während ich mit der Abfassung meiner Arbeit beschäftigt war, erschienen die Untersuchungen von Grafe[4]) an anämischen

---

[1]) A. Jaquet, Der respiratorische Gaswechsel. Ergebnisse d. Physiol. **1903**, II. Jahrg., I. Abt., S. 560.

[2]) Kraus und Chvostek fanden, daß in allen mit Anämikern angestellten Arbeitsversuchen der respiratorische Quotient stets sank, während er normalerweise steigt.

[3]) L. Krehl, Die Atmung. Krehls Pathologische Physiologie **1914**, 8. Aufl., S. 306.

[4]) E. Grafe, l. c.

Personen. Er gelangt zu dem Ergebnis, daß in seinen lang dauernden Versuchen kein wesentlicher Unterschied des respiratorischen Stoffwechsels bei ruhenden normalen und anämischen Menschen zu konstatieren war.

Methodik.

Meine eigenen Versuche habe ich an Menschen angestellt, die sich in der Respirationskammer von Jaquet befanden. Die Versuchspersonen ließ ich meist 4 Stunden in der Kammer bleiben. Eine größere Anzahl von Versuchen habe ich angestellt, um den respiratorischen Stoffwechsel in der Ruhe bei normalen und anämischen Personen zu untersuchen. Die Ruheversuche wurden derart ausgeführt, daß die Personen in bequemer Stellung auf gepolstertem Sitz und den Rücken an ein Polster gelehnt, dasaßen. Einzelne Versuchspersonen beschäftigten sich in dieser bequemen Ruhelage mit leichter Lektüre. Eine einzige Versuchsperson habe ich während der ganzen 4stündigen Versuchsdauer in liegender Lage beobachtet.

Der Vergleich zwischen Ruhe und Arbeit bei den beiden Arten von Menschen wurde in der Weise bewerkstelligt, daß in der ersten Hälfte der dritten Stunde die Versuchsperson eine vorher verabredete Muskelarbeit ausführte. Da das Institut noch nicht in den Besitz eines Ergometers gelangt ist, halfen wir uns auf folgende einfache Weise. Die Versuchspersonen hoben zwei 5-Kilogewichte eine bestimmte Anzahl Mal bis auf eine bestimmte Höhe, wie für jeden Fall in den Protokollen näher angegeben ist. Die Arbeitszeit wurde geteilt in Perioden von Gewichtshebungen und von Pausen.

Alle Versuche fanden in derselben Tageszeit, nämlich zwischen 2 und 6 Uhr nachmittags, also stets gleich lang nach der Mittagsmahlzeit, statt. Während des Aufenthalts im Apparate wurde keinerlei Nahrung aufgenommen.

Körpergewicht und Hämoglobingehalt der anämischen Patienten wurde mir von den behandelnden Ärzten mitgeteilt. Ich verdanke der großen Güte von Herrn Prof. Guggisberg, Direktor der Universitätsfrauenklinik, Herrn Dr. Wildbolz, Oberarzt am Inselspital, sowie Herrn Dr. von Muttach, leitender Arzt am Bürgerspital, die Möglichkeit, Untersuchungen

an anämischen Patienten anstellen zu können. Äußere Verhältnisse haben mich gezwungen, meine Untersuchungen, die einen größeren Umfang haben sollten, vorzeitig abzubrechen, weshalb ich weniger zu berichten habe, als im Interesse der Sache erwünscht wäre.

Ehe ich auf meine Versuche selbst eingehe, will ich die Methodik der Benützung des Jaquetschen Apparates, soweit die Gasanalyse in Betracht kommt, schildern. Zwar liegen schon Beschreibungen von Jaquet[1]) selbst sowie von Grafe[2]) vor; es erscheint mir aber nützlich, an dieser Stelle eine etwas detaillierte Beschreibung der Einzelheiten zu geben.

Der Jaquetsche Apparat besteht aus einer großen Respirationskammer und einer Elsterschen Gasuhr, die von einem Elektromotor getrieben wird. Mit dem Elektromotor und der Gasuhr ist ein Räderwerk gekuppelt, welches die Entnahmevorrichtung von Teilströmen der Kammerluft treibt. Zum Apparat gehören ferner der Gasanalysenapparat von Petterson-Högland-Tobiesen.

Die Größe der Kammer, wie sie für das physiologische Institut in Bern von der Firma Stoppani & Co. geliefert wurde, beträgt nach meinen Auswertungen 2034,9 l (Ausrechnung siehe Anhang).

Die Räder, die die Entnahmevorrichtung von Teilströmen der Kammerluft treiben, sind so eingerichtet, daß auf je 1500, 2000, 3000 oder 3500 l, die durch die große Gasuhr gehen, je 1 l als Teilstrom im Sammelzylinder abgesaugt wird. Ich habe immer in meinen Versuchen das Übertragungsverhältnis 2000 auf 1 gewählt. Wird nun durch die gasanalytische Untersuchung der Teilstromluft der Prozentgehalt an Kohlensäure und Sauerstoff bestimmt, und ist ferner der Gehalt der einströmenden Luft an Kohlensäure und Sauerstoff bekannt, so läßt sich die Größe des Sauerstoffverbrauches und der Kohlensäurebildung insgesamt ermitteln.

---

[1]) A. Jaquet, Ein neuer Apparat zur Untersuchung des respiratorischen Stoffwechsels des Menschen. Verhdl. d. naturforsch. Ges. in Basel 15, Heft 2, 252, 1903.

[2]) E. Grafe, Die Technik der Untersuchung des respiratorischen Gaswechsels beim gesunden und kranken Menschen. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethod. 7, 498, 1913.

Die Luft, die in die Respirationskammer einströmte, wurde durch eine besondere Leitung von der Straße, die in einer ruhigen Gegend liegt, zugeführt.

Um die absoluten Werte zu erhalten, ist es notwendig, das an der Gasuhr abgelesene Luftvolumen auf die Normalwerte von 0° 760 mm Hg-Druck und absolute Trockenheit zu reduzieren. Um sich die Berechnung, die für diesen Zweck gemacht werden muß, zu vereinfachen, ist ein von Zuntz konstruierter Reduktionsapparat, Thermobarograph, an der Gasuhr angebracht, so daß statt Thermometer und Barometer nur dieses Instrument abgelesen zu werden braucht.

Die Eichung des Thermobarographen: Zuerst wird der Barometerstand abgelesen und auf 0° reduziert. Bezeichnet man mit h_0 den Barometerstand auf 0°, mit h_t denselben bei einer bestimmten Zimmertemperatur t^0, mit γ den Ausdehnungskoeffizient des Quecksilbers und mit a denselben des Messings (Skala), so lautet die Gleichung[1]):

$$h_0 = [1 - (a - \gamma)\, t\, h_t].$$

Dann liest man die Temperatur der an der Gasuhr befindlichen Eingangs- und Ausgangsbüchse ab, deren mittlerer Wert mit dem Zeichen t angezeigt wird. Wenn man mit V_0 das reduzierte Volumen, d. h. 100 ccm, mit V das bei t^0 und auf dem reduzierten Barometerdruck B eingenommene Volumen und mit W die Tension des Wasserdampfes bei t^0 bezeichnet, so kann der Stand des Thermobarographen bei t^0 durch folgende Formel berechnet werden:

$$V = V_0 \frac{760\,(273 + t)}{(B - W)\,273}.$$

Wie Magnus-Levy[2]) schon erwähnte, zeigt der Stand des einmal eingestellten Thermobarographen immer mit der Zeit einen etwas geringeren Wert, als derselbe in Wirklichkeit zeigen sollte, wenn auch der Unterschied ganz minimal ist. Deshalb wurde die Eichung des Thermobarographen wöchentlich je ein-

[1]) cf. E. Blasius, Physikalische Übungen für Mediziner **1895**, 73.

[2]) Ad. Magnus-Levy, Über die Größe des resp. Gaswechsels unter dem Einfluß der Nahrungsaufnahme. Arch. f. d. ges. Physiol. **55**, 1, 1894.

mal vorgenommen. Beispielsweise wird in Tabelle I die obenerwähnte Tatsache veranschaulicht.

Tabelle I.

Datum	Barometerstand red. auf 0 C	Mittlere Temp. der Ein- und Ausgangsbüchse	Berechneter Thermobarographenstand	Datum der früheren Eichung	Gefundener Thermobarographenstand	Vermindertes Volumen ccm
3. III.	694,4	17,1	118,77	1. III.	118,73	0,04
10. „	704,1	14,55	115,72	3. „	115,40	0,32
16. „	706,1	17,5	117,00	10. „	116,88	0,12
24. „	702,4	12,8	115,10	16. „	114,97	0,13

Um das genauere Resultat zu erzielen, sei noch betont, daß bei der Ablesung des Thermobarographenstandes die beiden Wasseroberflächen des Apparates durch das Heben und Senken der Regulationspipette (Niveaurohr) immer in gleiches Niveau gebracht wird, während sie in der Zwischenzeit zugekorkt wird, um die unnötige Verdunstung des gefüllten Wassers zu verhindern.

Die Entnahme der Kammerluft: Man notiert zuerst den Stand der Gasuhr, die Höhe des Thermobarographen und die Zeit, zu der das Sammeln beginnt. Während des Versuches, insbesondere in der ersten Stunde, wiederholt man von Zeit zu Zeit die Ablesungen an der Gasuhr und am Thermobarographen, um sich zu überzeugen, daß der Apparat gut funktioniert und daß die Ventilation genügend ist. Sobald das Quecksilber aus dem Sammelzylinder beinahe vollständig abgeflossen ist, bestimmt man ein letztes Mal die Zeit und den Stand der Gasuhr und des Thermobarographen und schließt den am oberen Ende des Zylinders vorhandenen Dreiweghahn und die Klemme, welche auf dem, die Abflußpipette mit dem unteren Ende des Zylinders verbindenden Kautschukschlauch sitzt. Gewöhnlich gab ich der Gasuhr eine Geschwindigkeit, womit sie ca. 2500 l Luft pro Stunde aus der Kammer absaugen kann, weshalb der Zylinder ca. in 55 Minuten mit der Luft gefüllt wird. Selbstverständlich wird die Gasuhr während eines Versuches ununterbrochen gedreht.

Nun wird die im Zylinder angesammelte Teilstromluft

mittels Quecksilber in einen Aufbewahrungszylinder übergeführt, der nachher zum Gasanalysenapparat transportiert wird, um die Luft zu analysieren. Gleichzeitig wird der Sammelzylinder mit Quecksilber gefüllt und die Abflußpipette wieder an die Anfangsstelle hinaufgehoben, worauf man die vorher geschlossene Klemme wieder öffnet. Diese Manipulationen müssen möglichst schnell beendigt werden. Zu meinen Versuchen brauchte ich ungefähr 5 Minuten.

Dann beginnt die zweite Entnahme von Teilströmen der Kammerluft unter den ganz gleichen Vorsichtsmaßregeln, wie sie schon oben beschrieben wurden.

Nach der letzten Luftentnahme, d. h. gewöhnlich nach der 4. Stunde des Versuches, wird die Kammerluft durch eine an der Kammer besonders eingerichtete Öffnung in einen Aufbewahrungszylinder abgesaugt, die man als die letzte Kammerluft bezeichnet und die auch mit analysiert wird.

Während des ganzen Versuches wird ein in der Kammer angebrachter Ventilator durch einen Elektromotor in Bewegung erhalten, um die Kammerluft gleichmäßig zu mischen. Aber da der Ventilator wegen der Achsenreibung stark erhitzt wird, sind wir gezwungen, ihn während eines Versuches zwei- bis dreimal 5 bis 10 Minuten lang auszuschalten. Elektrische Zuleitungen und Schlüssel befinden sich auf einer außen an der Kammer angebrachten Schalttafel.

Die Analyse der angesammelten Luft. Zur Bestimmung der Kohlensäure braucht man 30 $^0/_0$ ige Kalilauge in Gewichtsprozent (Kalium hydricum purum in bacillis pro analysi, non in alcohol. depuratum, Merck), und zur Absorption des Sauerstoffes wird das hierzu benutzte Orsatsche Gefäß mit 10 $^0/_0$ iger Pyrogallollösung in konzentrierter reinster Kalilauge (60 Gewichtsprozent) gefüllt. Zur Vorbereitung der letzten Lösung wird ein gewisses Quantum Pyrogallol in Substanz in einen Scheidetrichter von 300 ccm Inhalt hineingebracht und dazu die frisch bereitete noch warme Kalilauge gegossen, und nachdem man die Lösung unter Luftabschluß heftig geschüttelt hat, wird dieselbe in das Orsatsche Gefäß eingefüllt.

Wenn man die Orsatschen Gefäße, wie es bisher üblich war, auf einer Seite offen läßt, wird die Pyrogallollösung früher verbraucht, weil der Sauerstoff der Luft allmählich in dieselbe

hineindiffundiert. Um diesem Übelstand zu begegnen, habe ich nach mannigfachen Vorversuchen mich entschieden, die Lösung auf der der Luft zugewendeten Seite mit reinem flüssigen Paraffin zu überschichten. Dieses Verfahren hat sich bewährt.

Ehe eine Analyse begonnen wird, muß man sich davon überzeugen, daß ein kleiner Tropfen destilliertes Wasser auf dem Quecksilber schwimmt, damit die zu analysierende Luft mit Wasserdampf gesättigt ist. Auch die Luft in der Kompensationspipette muß durch die Gegenwart einer geringeren Menge Wasser mit Feuchtigkeit gesättigt werden. Hierdurch vermeidet man die Verschiebung des Index (aus einem Tropfen mit Alkanna gefärbten Petroleums bestehend), die beim Arbeiten mit verschiedenen Temperaturen dadurch entsteht, daß bei Erwärmung das feuchtigkeitsgesättigte Gas sich mehr ausdehnt als das trockene[1]). Ferner darf sich zu Beginn der Analyse in dem Analysenapparat nur Stickstoff befinden, und am zweckmäßigsten wird auch eine Hälfte des Differentialmanometers diesseits des Index mit Stickstoff gefüllt. Selbstverständlich muß man sich im voraus versichern, daß der Apparat ganz luftdicht schließt, mit anderen Worten, daß keine zugehörigen Hähne und verbindenden Gummischläuche schlecht sind.

Der Gang einer Analyse gestaltet sich ganz gleich, wie Jaquet[2]) in seiner Arbeit veröffentlicht hat. Ich habe stets nach der Sauerstoffresorption mit Pyrogallol das Gas noch einmal in die Kaliröhre übergeleitet, um dabei entstehendes Kohlenoxyd zu absorbieren. Hierauf habe ich nochmals das Gas in die Pyrogallolröhre zurückgebracht, um die letzten Reste von Sauerstoff, die in den Verbindungscapillaren zum Orsatschen Gefäß für Kohlensäureabsorption etwa verbleiben, zu entfernen.

Sollten die Werte der Doppelanalysen mehr wie 0,01 (zuweilen 0,03) $^0/_0$ differieren, so muß eine dritte Analyse gemacht

---

[1]) cf. Torsen Thunberg, Ein Mikrorespirometer, ein neuer Respirationsapparat, um den resp. Gasaustausch kleinerer Organe und Organismen zu bestimmen. Skand. Arch. f. Physiol. **17**, 74, 1905.

[2]) A. Jaquet, Ein neuer Apparat zur Untersuchung des resp. Stoffwechsels des Menschen. Verhandl. d. naturforsch. Gesellsch. in Basel 1903, **15**, H. 2, S. 252.

werden, und die beiden übereinstimmenden Resultate werden zur Berechnung des Mittelwertes benutzt. Meistens war bei exaktem Arbeiten dies aber nur selten notwendig.

Noch ist zu bemerken, daß vor jeder Ablesung des Quecksilbermeniskus das sich im Glasmantel befindliche Wasser ganz gut umgerührt werden muß, um demselben eine überall gleichmäßige Temperatur zu geben, wodurch die Meßpipette und das Kompensationsrohr auf gleiche Temperatur gebracht werden. Zu diesem Zweck habe ich mittels eines Doppelgummiballons, der mit einer bis in die tiefste Schicht des Wassers reichenden Glasröhre verbunden war, Luft in das Wasser geblasen.

Bei der Analyse der Straßenluft mit diesem Gasanalysenapparate habe ich folgenden Gehalt an Kohlensäure und Sauerstoff gefunden, wie Tabelle II zeigt:

Tabelle II.

Nr.	CO_2 %	O_2 %
1	0,030	20,945
2	0,028	20,942
3	0,033	20,932
4	0,038	20,937
Mittelwert	0,032	20,939

Hieraus ergibt sich, daß die von mir benutzte Straßenluft folgende Zusammensetzung hat:

$$CO_2 = 0{,}03\,\%, \quad O_2 = 20{,}94\,\%, \quad N = 79{,}03\,\%,$$

und ich habe diese Zahlen meinen Berechnungen zugrunde gelegt.

Die Berechnung der Versuche. Ich will als Beispiel die in der 2. Stunde des ersten Versuches erhaltenen Werte nehmen, um die Berechnungsweise der Versuche zu erklären.

Die abgelesene Ventilation in 54 Minuten beträgt 2111 l bei einem mittleren Wert des Thermobarographen von 116,81 ccm. Deshalb ist die Ventilation in 1 Stunde bei 0° und 760 mm Hg-Druck in absoluter Trockenheit

$$2111 \times \frac{60}{54} \times \frac{100}{116,81} = 2008 \text{ l.}$$

Nun enthalten 2008 l Kohlensäure von 0,571 %, aber da der Kohlensäuregehalt der einströmenden Luft, nämlich der normalen Außenluft, bei meinem Vorversuche 0,03 % beträgt, wie ich schon erwähnt habe, so gibt

$$2008 \times \frac{0,571 - 0,03}{100} = 10,86 \text{ l}$$

die in der Stunde gebildete Menge Kohlensäure an. Die betreffende Versuchsperson hatte das Körpergewicht von 61 kg. Die Kohlensäureproduktion pro Kilogramm und Minute in Kubikzentimeter beträgt somit

$$10,86 \times \frac{1000}{61 \times 60} = 2.97 \text{ ccm.}$$

Die Berechnung für den Sauerstoffverbrauch wurde indirekt vorgenommen. In diesem Falle zeigt die Luftanalyse 0,571 % Kohlensäure- und 20,335 % Sauerstoffgehalt. Daher ist der Stickstoffgehalt in der Ventilationsluft

$$100 - 0,571 + 20,335) = 79,094 \%.$$

Nach meinem Vorversuche enthält die Straßenluft 0,03 % Kohlensäure und 20,94 % Sauerstoff, weshalb der Stickstoffgehalt der einströmenden Luft 79,03 % beträgt. Da der tierische Organismus keinen atmosphärischen Stickstoff verwendet, muß die zugeführte und die abgeführte Luft genau die gleiche Menge Stickstoff enthalten. In der zugeführten Luft soll daher $79,094 \times \frac{20,94}{79,03}$ % Sauerstoff enthalten sein. Also sind

$$\frac{2008}{100} \times \left(79,004 \times \frac{20,94}{79,03} - 20,335\right) = 12,49 \text{ l}$$

die während des Versuches verbrauchte Sauerstoffmenge, d. h. das Sauerstoffdefizit. Der Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Minute in Kubikzentimeter beträgt demnach

$$12{,}49 \times \frac{1000}{61 \times 60} = 3{,}41 \text{ ccm.}$$

Der respiratorische Quotient (R. Q.) in dieser Stunde ist

$$\frac{10{,}86}{12{,}49} = 0{,}87.$$

Die Versuche und ihre Ergebnisse.

Die Ergebnisse meiner mit der beschriebenen Methode ausgeführten Versuche lege ich in den nachfolgenden Tabellen nieder. Um die Übersicht zu erleichtern, habe ich außer den Sonderprotokollen der einzelnen Versuche eine tabellarische Aufstellung sämtlicher Versuche in einer zusammenfassenden Tabelle gemacht. Es bedarf daher nur noch weniger Worte der Erläuterung.

Was den Ruhestoffwechsel der normalen Menschen betrifft, so habe ich bei sechs Versuchspersonen als Mittelwert der Kohlensäureproduktion pro Kilogramm und Minute 3,43 ccm und des Sauerstoffverbrauchs 3,90 ccm gefunden, was einen respiratorischen Quotienten von 0,877 ergibt. Eine Versuchsperson wurde doppelt untersucht; dieselbe ergab das eine Mal 3,08 ccm und das andere Mal 2,95 ccm Kohlensäureproduktion pro Kilogramm und Minute. Diese nahe Übereinstimmung spricht für die Zuverlässigkeit der angewandten Methode. Bei einer Versuchsperson entfernen sich die gefundenen Werte der Kohlensäureproduktion und des Sauerstoffverbrauches etwas mehr vom Mittelwerte, indem sie wesentlich höher sind. Dies rührt daher, daß die betreffende Versuchsperson zu den nervösen Menschen gehörte und wohl eine ganze Menge von unwissentlichen Körperbewegungen ausführte.

Zu bemerken ist noch, daß bei allen Versuchspersonen innerhalb der einzelnen Versuchsstunden der respiratorische Quotient gleich blieb, woraus folgt, daß der Stoffwechsel während der Versuchsdauer sich nicht änderte.

Die Ruheversuche an anämischen Menschen ergaben als Mittelwert für die Kohlensäureproduktion 3,69 ccm pro Kilogramm und Minute und für den Sauerstoffverbrauch 4,19 ccm.

Man kann dieses Ergebnis dahin formulieren, daß der Ruhestoffwechsel des anämischen Menschen nicht von demjenigen normaler Menschen verschieden ist. Ich möchte darauf hinweisen, daß gerade bei derjenigen Versuchsperson, die den geringsten Hämoglobingehalt hatte, die Kohlensäureproduktion und der Sauerstoffverbrauch am geringsten war, aber nicht geringer als die niedrigsten Werte bei normalen Menschen.

Der Mittelwert des respiratorischen Quotienten betrug 0,882, also wiederum das gleiche Verhalten wie bei normalen Menschen.

Bei den Arbeitsversuchen, sowohl an normalen wie an anämischen Personen, zeigte sich ausnahmslos in den Arbeitsperioden eine kleine Zunahme des respiratorischen Quotienten, was dafür spricht, daß bei allen während der Muskeltätigkeit eine gesteigerte Verbrennung von Kohlenhydraten stattfand.

Die Zunahme der Kohlensäureproduktion und des Sauerstoffverbrauches infolge der Muskelarbeit habe ich auf 2 Stunden berechnet, weil sich zeigte, daß auch in der Stunde nach der Muskelarbeit die Folge des gesteigerten respiratorischen Stoffwechsels in der Kammerluft analytisch nachweisbar war.

Ich habe, wie im Kapitel der Methodik auseinandergesetzt wurde, zwischen leichterer und schwerer Muskelarbeit unterschieden. Die bemerkenswertesten Resultate sind die bei größerer Muskelarbeit erhaltenen. Es betrug bei normalen Menschen die 2stündige Zunahme der Kohlensäureproduktion pro Kilogramm 130,1 ccm, diejenige des Sauerstoffverbrauches 127,7 ccm. Hingegen betrug die 2stündige Zunahme der Kohlensäureproduktion an anämischen Menschen pro Kilogramm 150,1 ccm, des Sauerstoffverbrauchs 144,7 ccm. Es ist demnach eine, wenn nicht große, jedoch merkliche Erhöhung des respiratorischen Stoffwechsels beim Anämiker zu konstatieren, und zwar ist die Erhöhung der Kohlensäureausscheidung noch etwas größer als diejenige des Sauerstoffverbrauches.

Die Erhöhung der Kohlensäurebildung bei Muskeltätigkeit des abnormen Menschen gegenüber dem normalen ist eine Erscheinung, die schon beobachtet worden ist. Beispielsweise hat

Schnyder[1]) unter Benützung von Kroneckers Methodik gefunden, daß Rekonvaleszenten von schweren Krankheiten mehr Kohlensäure pro Kilogrammeter Arbeit bildeten als normale Menschen. Insofern reiht sich die Anämie dem Symptomenbilde anderer Krankheiten an. Neu ist jedoch mein Nachweis, daß der Sauerstoffverbrauch der Anämiker bei Muskelarbeit größer ist als derjenige von normalen Personen.

Leider müssen sich meine Schlußfolgerungen nur auf zwei genau untersuchte Fälle stützen, und es müssen noch mehr Untersuchungen nach dieser Richtung hin angestellt werden. Ich kann aber darauf hinweisen, daß der in den beiden Fällen beobachtete Unterschied erstens ein merklicher ist und zweitens, daß er bei einer immerhin als geringfügig zu bezeichnenden Muskelarbeit eingetreten ist. Es ist kaum zu bezweifeln, daß bei größerer Muskelarbeit der Unterschied größer ausgefallen wäre.

Die von mir gefundene Tatsache steht im Einklange mit Beobachtungen, die man an anämischen Personen zu machen in der Lage gewesen ist, nämlich, daß dieselben möglichst größere Anstrengungen vermeiden und ihre Bewegungen einschränken. Letztere Tatsache erscheint im Lichte des von mir gemachten Befundes durchaus verständlich.

Daß der respiratorische Ruhestoffwechsel des anämischen Menschen nicht von demjenigen des normalen unterschieden ist, wie durch frühere sowie durch meine Untersuchungen gezeigt worden ist, steht einerseits in Übereinstimmung mit der Tatsache, daß die Sauerstoffkapazität des Blutes bei Anämie dieselbe ist wie im normalen Zustand, sowie damit, daß eine Reihe von kompensatorischen Faktoren bei der Anämie bekannt sind. Diese kompensatorischen Faktoren dürften auch bei der Regulierung der Muskelarbeit im Spiele sein, aber es kann bezweifelt werden, ob dieselben ausreichend sind. Die von mir gefundenen Tatsachen berechtigen zu diesem Zweifel, und es wird sich verlohnen, weitere experimentelle Grundlagen nach dieser Richtung hin zu gewinnen.

---

[1]) L. Schnyder, Muskelkraft und Gaswechsel. Zeitschr. f. Biol. **33**, 289, 1896.

I. Versuch vom 15. Februar 1916.

Herr M. L. 23 Jahre. 61 kg, gesund. — Ein Student der Medizin.

Tabelle III. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2h 26′	3213	116,43	14,0			Sitzen und Lesen.
	2h 43′	3874	116,53	14,6	0,405	20,525	Akkumulator auf 110 Volt.
	2h 56′	4383	116,67	15,0	0,403	20,540	Ventilator in Bewegung.
	3h 19′	5263	116,81	15,7	0,404	20,533	
	53′	2050	116,61	14,8			
II	3h 27′	5582	116,83	16,0			dito
	3h 45′		116,83	16,0	0,570	20,338	
	4h 8′		116,79	16,0	0,571	20,332	
	4h 21′	7693	116,78	16,0	0,571	20,335	
	54′	2111	116,81	16,0			
III	4h 27′ 30″	7956	116,78	16,1			dito
	4h 45′		116,70	16,5	0,624	20,274	
	5h 3′		116,61	16,4	0,614	20,273	
	5h 22′	9990	116,61	16,3	0,619	20,274	
	54′ 30″	2034	116,68	16,3			
IV	5h 27′	10208	116,58	16,3			dito
	5h 45′		116,41	16,3	0,633	20,237	
	6h 3′		116,38	16,0	0,635	20,249	
	6h 23′	12265	116,43	16,0	0,634	20,243	
	56′	2057	116,45	16,2			
V	6h 26′	Letzte Kammerluft			0,629	20,244	Während des Versuches kein Urinieren, kein Essen und kein Trinken. Er klagt über kein Unbehagen außer über Langweile.
					0,628	20,245	
					0,629	20,245	

Tabelle IV. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2h 25′ — 3h 25′	1990,2	7,44	2,03	8,28	2,26	0,899	Die Versuchsperson ganz ruhig sitzend und eine Novelle lesend.
II	3h 25′ — 4h 25′	2008,0	10,86	2,97	12,49	3,41	0,870	
III	4h 25′ — 5h 25′	1955,1	11,52	3,15	13,41	3,66	0,859	
IV	5h 25′ — 6h 25′	1892,5	11,43	3,12	13,66	3,73	0,837	
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,831	
Mittelwert v. d. letzten 3 Std.:			11,27	3,08	13,19	3,60	0,855	

II. Versuch vom 17. Februar 1916.

Herr M. F. 22 Jahre. 78,5 kg, gesund. — Ein Student der Medizin.

Tabelle V. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2^h 18′	3670	118,28	17,2			Der Untersuchte sitzend und
	2^h 36′	4366	118,43	17,5	0,567	20,357	sich anlehnend, hat gelesen, zu-
	2^h 54′	5066	118,43	18,0	0,556	20,354	weilen etwas geschrieben.
	3^h 12′	5745	118,28	18,0	0,562	20,356	Akkumulator auf 110 Volt.
	54′	2075	118,36	17,7			Ventilator in der Kammer gedreht.
II	3^h 17′ 30″	5950	118,21	18,0			Auch ganz ruhig sitzend.
	3^h 36′		118,11	18,0	0,920	19,992	ca. 100 ccm Wasser genom-
	3^h 54′		117,86	17,8	0,890	20,008	men.
	4^h 13′ 30″	8125	117,78	17,8	0,905	20,000	
	56′	2175	117,99	17,9			
III	4^h 20′ 30″	8395	117,78	17,8			dito
	4^h 36′		117,73	17,7	0,918	19,989	ca. 100 ccm Wasser genom-
	4^h 54′		117,69	17,6	0,920	19,978	men. 1 mal uriniert.
	5^h 15′ 30″	10482	117,70	18,0	0,919	19,984	
	55′	2087	117,73	17,8			
IV	5^h 21′ 30″	10710	117,70	18,0			dito
	5^h 36′		117,61	17,6	0,920	19,982	
	5^h 53′		117,64	17,6	0,923	19,982	
	6^h 10′	12520	117,71	17,8	0,922	19,982	
	48′ 30″	1810	117,67	17,8			
V	6^h 20′	Letzte Kammerluft			0,907	20,009	Er hat den Versuch ohne
					0,902	20,013	Unbehagen gut vertragen.
					0,905	20,011	

Tabelle VI. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2^h 15′ — 3^h 15′	1948,1	10,36	2,20	11,65	2,47	0,890	Ruhig sitzend und
II	3^h 15′ — 4^h 15′	1975,1	17,28	3,67	18,92	4,02	0,913	lesend, zuweilen etwas
III	4^h 15′ — 5^h 15′	1933,8	17,19	3,65	18,88	4,01	0,910	schreibend.
IV	5^h 15′ — 6^h 15′	1903,0	16,98	3,60	18,57	3,94	0,914	
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,927	
Mittelwert v. d. letzten 3 Std.:			17,15	3,64	18,79	3,99	0,912	

III. Versuch vom 22. Februar 1916.

Herr H. M. 29 Jahre. 58,5 kg, gesund. — Ein Student der Medizin.

Tabelle VII. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2ʰ 48′	3227	115,65	13,5	0,440	20,470	Liegen und Lesen.
	3ʰ 6′	3945	116,08	13,7			Akkumulator auf 120 Volt.
	3ʰ 24′	4685	116,45	14,5			Ventilator gedreht.
	3ʰ 42′	5460	116,65	15,5			
	54′	2233	116,21	14,3			
II	3ʰ 48′ 30″	5745	116,76	15,5			dito
	4ʰ 6′		116,78	16,0	0,753	20,152	
	4ʰ 24′		116,74	16,2	0,755	20,171	
	4ʰ 42′	8000	116,67	16,5	0,754	20,162	
	53′ 30″	2255	116,74	16,1			
III	4ʰ 49′ 30″	8333	116,65	16,5			Liegen und Lesen, zuweilen etwas Schreiben.
	5ʰ 6′		116,50	16,3	0,740	20,173	
	5ʰ 24′		116,35	16,0	Andere Analyse mißlungen		
	5ʰ 42′	10570	116,23	16,0			
	52′ 30″	2237	116,43	16,2			
IV	5ʰ 48′ 30″	10848	116,25	16,0			dito
	6ʰ 6′		116,07	15,5	0,721	20,187	
	6ʰ 24′		116,07	15,5	0,717	20,190	
	6ʰ 42′	13207	115,98	16,0	0,719	20,180	
	53′ 30″	2359	116,09	15,8			
V	6ʰ 45″	Letzte Kammerluft			0,700	20,213	Während des Versuches 4mal uriniert, Gesamtmenge des entleerten Harns beträgt 800 g. Kein Essen u. Trinken erlaubt.

Tabelle VIII. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2ʰ 45′ — 3ʰ 45′	2135,0	—	—	—	—	0,844	Liegen und Lesen, zuweilen etwas Schreiben.
II	3ʰ 45′ — 4ʰ 45′	2166,3	15,68	4,47	17,18	4,89	0,913	
III	4ʰ 45′ — 5ʰ 45′	2195,8	15,59	4,44	17,19	4,90	0,907	
IV	5ʰ 45′ — 6ʰ 45′	2279,9	15,70	4,47	17,50	4,99	0,897	
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,902	
Mittelwert v. d. letzten 3 Std.:			15,66	4,46	17,29	4,93	0,906	

IV. Versuch vom 1. März 1916.

Herr E. M. 15 Jahre. 45 kg.

Klinische Diagnose: linksseitige tuberkulöse Ellbogengelenkentzündung mit kombinierender Anämie. Hämoglobingehalt 60 bis 80 = 75 % nach Sahli (von Dr. Wildbolz' Klinik). Von Anfang an soll die Krankheit ganz fieberlos verlaufen sein.

Tabelle IX. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	3h 6′	3460	118,16	14,3	·		Nur Liegen, weder Lesen noch
	3h 24′	4230	118,30	14,7			Schreiben. Vor dem Versuche
	3h 42′	5098	118,30	15,0	0,344	20,571	ist der Patient in große Angst
	3h 59′	5710	118,20	15,0			geraten, so daß er geweint hat.
	53′	2250	118,24	14,8			Akkumulator auf 120 Volt. Ventilator gedreht.
II	4h 6′	6000	118,20	15,0			Sitzen und Anlehnen
	4h 24′		118,15	15,2	0,560	20,347	(um 3h 56′).
	4h 42′		118,00	15,2	0,566	20,339	
	4h 59′	8275	117,95	15,3			
	54′	2275	118,08	15,2	0,563	20,343	
III	5′ 6′	8525	118,01	15,3			Wieder Liegen
	5′ 24′		117,40	14,5	0,580	20,325	(um 4h 57′).
	5′ 42′		117,33	14,0	0,568	20,325	
	6′ 0′	10785	117,31	14,0			
	54′	2260	117,51	14,5	0,574	20,325	
IV	5h 5′	Letzte Kammerluft			0,556	20,337	Während des Versuches kein Essen und kein Trinken, auch kein Wasserlassen.

Tabelle X. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	3h — 4h	2154,2	—	—	—	—	0,818	Ruhig liegend.
II	4h — 5h	2140,8	11,41	4,23	13,14	4,87	0,868	Ruhig sitzend.
III	5h — 6h	2136,9	11,63	4,31	13,57	5,03	0,857	Ruhig liegend.
IV	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,844	
Mittelwert v. d. letzten 2 Std.:			11,52	4,27	13,36	4,95	0,863	

Vergleichung des respiratorischen Stoffwechsels beim Ruhezustand von normalen und anämischen Menschen.

Tabelle XI.

Normale Menschen.

Nr.	Versuchsperson	Alter	Körpergewicht kg	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunne in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	Herr M. L.	23	61,0	11,27	3,08	13,19	3,60	0,855	Mittelwert von 3 Stunden.
II	„ M. F.	22	78,5	17,15	3,64	18,79	3,99	0,912	dito
III	„ H. M.	29	58,5	15,66	4,46	17,29	4,93	0,906	dito
V	Frl. H. M,	22	61,5	11,74	3,18	14,14	3,83	0,830	
VI	Herr M. L.	23	61,0	10,81	2,95	12,74	3,48	0,849	
VII	„ G. F.	30	71,5	13,91	3,24	15,33	3,57	0,907	
	Mittelwert:	25	65,7	13,42	3,43	15,25	3,90	0,877	

Tabelle XII.

Anämische Menschen.

Nr.	Versuchsperson	Alter	Körpergewicht kg	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
IV	Herr E. M.	15	45,0	11,52	4,27	13,36	4,95	0,863	Hb.-Gehalt 60—80. Mittelwert von 2 Stunden.
VIII	Fr. M. S.	43	45,5	8,23	3,02	9,45	3,46	0,871	Hb.-Gehalt 35—70. Mittelwert von 2 Stunden.
IX	Frl. L. C.	20	53,0	11,23	3,53	12,26	3,86	0,916	Hb.-Gehalt 62—80. Mittelwert von 2 Stunden.
X	Fr. F. M.	22	46,5	10,95	3,93	12,48	4,47	0,878	Hb.-Gehalt 72—80. Mittelwert von 2 Stunden.
	Mittelwert:	25	47,5	10,48	3,69	11,89	4,19	0,882	

V. Versuch vom 21. März 1916.

Frl. H. M. 22 Jahre. 61,5 kg, gesund. — Eine Studentin der Medizin.
Gaswechsel bei kleinerer Muskelarbeit untersucht.

Tabelle XIII. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2h 38′	165	116,20	12,5	nicht analysiert		Sitzen und Lesen (Ruhe). Akkumulator auf 120 Volt.
	2h 59′	1 080	116,36	13,0			
	3h 15′ 30″	1 810	116,40	13,4			Am Ende der Stunde Ventilator 10 Min. ausgeschaltet.
	3h 30′	2 465	116,41	13,5			
	52′	2 300	116,34	13,1			
II	3h 35′	2 695	116,47	14,0			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	3h 53′		116,45	14,0	0,527	20,351	
	4h 11′		116,35	14,0	0,540	20,357	
	4h 29′	5 135	116,30	14,0			
					0,534	20,354	Am Ende der Stunde Ventilator 5 Min. ausgeschaltet.
	54′	2 440	116,39	14,0			
III	4h 34′	5 365	116,32	13,8			Sitzen und Arbeiten in den ersten 30 Min.
	4h 52′		116,31	14,2	0,685	20,195	
	5h 10′		116,33	14,2	0,688	20,188	Mit je 3 Min. Pause 10 mal 10 zwei 5 Kilogewichte vom Boden auf den Liegestuhl (41,5 cm hoch) emporgehoben.
	5h 28′	7 845	116,31	14,2			
					0,687	20,192	
	54′	2 480	116,32	14,1			
IV	5h 34′	8 119	116,40	14,1			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	5h 52′		116,37	14,1	0,638	20,228	
	6h 10′		116,35	14,1	0,635	20,225	
	6h 28′	10 500	116,40	14,1			
					0,637	20,227	
	54′	2 390	116,38	14,1			
V	6h 30′	Letzte Kammerluft			0,618	20,242	Während des Versuches kein Urinieren.
					0,610	20,258	
					0,614	20,250	

Tabelle XIV. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2h 30′ — 3h 30′	2281,1	—	—	—	—	—	Ruhe.
II	3h 30′ — 4h 30′	2329,4	11,74	3,18	14,14	3,83	0,830	Auch Ruhe.
III	4h 30′ — 5h 30′	2368,9	15,56	4,21	18,29	4,96	0,851	Muskelarbeit in den ersten 30 Minuten.
IV	5h 30′ — 6h 30′	2281,8	13,85	3,75	16,91	4,58	0,819	Wieder Ruhe.
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,813	—
Zunahme des Gaswechsels in den letzten 2 Stund.	III. Std.		3,82	1,03	4,15	1,13	0,920	
	IV. Std.		2,11	0,57	2,77	0,75	0,762	
	Mittelwert		2,97	0,80	3,46	0,94	0,858	

VI. Versuch vom 3. März 1916.

Herr M. L. 23 Jahre. 61 kg, gesund. — Ein Student der Medizin.
Gaswechsel bei größerer Muskelarbeit untersucht.

Tabelle XV. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	$2^h 22'$	1085	118,18	13,0	nicht analysiert		Nur Liegen, nichts zu tun, 15 Min. später ist er eingeschlafen. Um $3^h 12'$ hat man ihn aufgeweckt, um ihn sitzen zu lassen.
	$2^h 38'$	1735	118,08	13,2			
	$2^h 56'$	2480	118,06	13,2			
	$3^h 14'$	3220	118,05	13,2			
	52′	2135	118,09	13,2			Akkumulator auf 120 Volt.
II	$3^h 15'$	3425	118,15	14,0			Sitzen und Lesen. Am Anfang der Stunde Ventilator 7 Min. ausgeschaltet.
	$3^h 38'$		118,15	14,3	0,524	20,363	
	$3^h 56'$		118,08	14,2	0,526	20,389	
	$4^h 14'$	5790	118,07	14,2	0,525	20,376	
	55′	2365	118,11	14,2			
III	$4^h 20' 30''$	6070	118,13	14,3			Sitzen und Arbeiten in der ersten 3/4 Stunde. Mit je 5 Min. Pause 10mal 10 zwei 5 Kilo-Gewichte vom Boden auf das Wandbrett (70,5 cm hoch) emporgehob.
	$4^h 38'$		118,08	14,3	0,781	20,140	
	$4^h 56'$		118,08	14,3	Andere Analyse mißlungen		
	$5^h 14'$	8340	118,05	14,3			
	53′ 30″	2270	118,09	14,3			
IV	$5^h 20'$	8586	118,05	14,5			Sitzen und etwas Lesen. Am Anfang der Stunde Ventilator 5 Min. lang ausgeschaltet. Seit $5^h 50'$ Liegen.
	$5^h 38'$		118,00	14,3	0,720	20,173	
	$5^h 56'$		117,92	14,0	0,718	20,189	
	$6^h 14'$	10785	117,88	14,0	0,719	20,181	
	54′	2200	117,96	14,2			
V	$6^h 20'$	Letzte Kammerluft			0,493	20,411	Während des Versuches hat die betr. Person keinen Tropfen Wasser genommen und keinen Harn gelassen.
					0,505	20,412	
					0,499	20,412	

Tabelle XVI. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	$2^h 20' - 3^h 20'$	1923,3	—	—	—	—	—	Ruhe.
II	$3^h 20' - 4^h 20'$	2184,4	10,81	2,95	12,74	3,48	0,879	Auch Ruhe.
III	$4^h 20' - 5^h 20'$	2155,9	16,19	4,42	17,53	4,79	0,903	Muskelarbeit in der ersten 3/4 Stunde.
IV	$5^h 20' - 6^h 20'$	2072,2	14,28	3,90	16,12	4,41	0,886	Wieder Ruhe.
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,862	—
Zunahme des Gaswechsels in den letzten 2 Stunden	III. Std.		5,38	1,47	4,79	1,31	1,123	
	IV. „		3,47	0,95	3,38	0,93	1,027	
	Mittelwert		4,43	1,21	4,09	1,12	1,083	

VII. Versuch vom 10. März 1916.

Herr G. F. 30 Jahre. 71,5 kg, gesund.
Gaswechsel bei größerer Muskelarbeit untersucht.

Tabelle XVII. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2^h 24′	1110	115,45	15,7			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	2^h 42′	1870	116,05	12,0	0,436	20,526	Akkumulator auf 120 Volt.
	3^h 0′	2680	116,30	13,0	0,423	20,527	Am Ende der Stunde Ventilator 10 Min. lang ausgeschaltet.
	3^h 12′	3450	116,37	13,3			
	54′	2340	116,04	13,5	0,430	20,527	
II	3^h 25′	3755	116,50	14,3			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	3^h 42′		116,47	14,0	0,674	20,242	1 mal uriniert.
	4^h 0′		116,48	14,0	0,676	20,239	Am Ende der Stunde Ventilator 10 Min. lang ausgeschaltet.
	4^h 17′	5925	116,42	14,0			
	52′	2170	116,47	14,1	0,677	20,241	
III	4^h 22′	6125	116,45	15,0			Sitzen und Arbeiten in der ersten Hälfte der Stunde.
	4^h 40′		116,38	14,8	1,000	19,915	Mit je 3 Min. Pause 10 mal 10 zwei 5 Kilo-Gewichte vom Boden auf das Wandbrett emporgehoben.
	4^h 58′		116,35	15,2	0,988	19,819	
	5^h 16′	8285	116,22	14,2			
	54′	2160	116,35	14,8	0,994	19,917	
IV	5^h 21′	8485	115,80	14,2			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	5^h 39′		115,38	13,2	0,801	mißlungen	
	5^h 57′		114,75	12,0	0,786	20,112	
	6^h 15′	10675	114,55	12,0			
	54′	2190	115,12	12,9	0,794	20,112	
V	6^h 18′	Letzte Kammerluft			0,796	20,099	Während des Versuches kein Essen und kein Trinken.

Tabelle XVIII. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2^h 20′ — 3^h 20′	2240,6	8,96	2,09	9,34	2,18	0,959	Ruhe.
II	3^h 20′ — 4^h 20′	2149,8	13,91	3,24	15,33	3,57	0,907	Auch Ruhe.
III	4^h 20′ — 5^h 20′	2062,7	19,89	4,64	21,49	5,01	0,925	Muskelarbeit in den ersten 30 Min.
IV	5^h 20′ — 6^h 20′	2113,6	16,15	3,76	17,86	4,16	0,904	Wieder Ruhe.
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,890	—
Zunahme des Gaswechsels in den letzten 2 Stunden		III. Std.	5,98	1,40	6,16	1,44	0,971	
		IV. „	2,24	0,52	2,53	0,59	0,885	
		Mittelwert	4,11	0,96	4,35	1,02	0,945	

VIII. Versuch vom 16. März 1916.

Fr. M. S. 43 Jahre. 45,5 kg.

Klinische Diagnose: gangränöses Myom mit der durch den langdauernden heftigen Blutabgang herbeigeführten Anämie. — Hämoglobingehalt 35/70 = 50% nach Sahli (von Prof. Guggisbergs Frauenklinik).

Gaswechsel bei kleiner Muskelarbeit untersucht.

Tabelle XIX. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2h 24′	1245	116,87	15,0	nicht analysiert		Sitzen und Lesen (Ruhe). Akkumulator auf 120 Volt.
	2h 42′	1940	116,85	15,0			Am Ende der Stunde Ventilator 10 Min. lang ausgeschaltet.
	3h 0′	2625	116,80	15,1			
	3h 17′	3240	116,75	15,1			
	53′	1995	116,82	15,1			
II	3h 22′	3520	116,82	15,3			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	3h 40′		116,75	15,2	0,469	20,445	Am Ende der Stunde Ventilator auch 10 Min. lang ausgeschaltet.
	3h 58′		116,68	15,1	0,470	20,455	
	4h 16′	5390	116,68	15,0			
	54′	1970	116,73	15,2	0,469	20,450	
III	4h 21′	5570	116,75	15,0			Sitzen und Gewichtsheben in den ersten 30 Min. Mit je 3 Min. Pause zwei 5 Kilogewichte vom Boden auf den Liegestuhl emporgehoben.
	4h 39′		116,72	15,8	0,607	20,321	
	4h 57′		116,62	15,1	0,609	20,310	
	5h 15′	7590	116,60	15,0			
	54′	2020	116,68	15,2	0,608	20,316	
IV	5h 20′	7775	116,63	15,0			Sitzen und Lesen (Ruhe). Am Anfang der Stunde Ventilator 5 Min. lang ausgeschaltet. Im Laufe der Stunde hat jemand eine Zeitlang den Akkumulator auf 90 Volt ausgeschaltet, so daß die Gasuhr etwas langsam gegangen ist.
	5h 38′		116,52	15,0	0,581	20,349	
	5h 56′		116,45	15,0	0,577	20,323	
	6h 14′	9690	116,56	15,0			
	54′	1915	116,54	15,0	0,579	20,336	
V	6h 17′	Letzte Kammerluft			0,550	20,356	Während des Versuches kein Urinieren und keine Nahrungsaufnahme. Bei der Muskelarbeit machte sich nichts andres als geringe Kurzatmigkeit bemerkbar.
					0,548	20,360	
					0,549	20,358	

Tabelle XX. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2h 20′ — 3h 20′	1933,3	—	—	—	—	—	Ruhe.
II	3h 20′ — 4h 20′	1875,2	8,23	3,02	9,45	3,46	0,071	Auch Ruhe.
III	4h 20′ — 5h 20′	1923,5	11,12	4,07	12,23	4,48	0,909	Muskelarbeit in den ersten 30 Min.
IV	5h 20′ — 6h 20′	1825,8	10,02	3,67	11,30	4,14	0,887	Wieder Ruhe.
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,869	—
Zunahme des Gaswechsels in den letzten 2 Stunden	III. Std.		2,89	1,05	2,78	1,02	1,040	
	IV. „		1,79	0,65	1,85	0,68	0,968	
	Mittelwert		2,34	0,85	2,32	0,85	1,009	

IX. Versuch vom 24. März 1916.

Frl. L. C. 20 Jahre. 53 kg.

Klinische Diagnose: gebesserte Chlorose. Hämoglobingehalt 62/80 = 77,5 % nach Sahli (von Dr. v. Muttach).

Gaswechsel bei größerer Muskelarbeit untersucht.

Tabelle XXI. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2h 19′	1055	115,30	11,5	nicht analysiert		Sitzen und Lesen (Ruhe).
	2h 37′	1825	115,20	11,8			Akkumulator auf 120 Volt.
	2h 55′	2615	115,28	12,8			
	3h 14′	3415	115,18	12,0			Am Ende der Stunde Ventilator 10 Min. lang ausgeschaltet.
	55′	2360	115,24	11,8			
II	3h 18′	3580	115,20	12,2			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	3h 36′		115,16	12,2	0,540	20,393	
	3h 54′		115,22	12,2	0,544	20,389	Am Ende der Stunde Ventilator auch 10 Min. lang ausgeschaltet.
	4h 12′	5855	115,30	12,2	0,542	20,391	
	54′	2275	115,22	12,2			
III	4h 17′ 30″	6090	115,40	12,2			Sitzen und Gewichtsheben in den ersten 40 Min.
	4h 35′		115,35	13,2	0,758	20,183	
	4h 53′		115,40	13,2	0,754	20,179	Mit je 4 Min. Pause 10mal 10 zwei 5 Kilogewichte vom Boden auf das Wandbrett emporgehoben.
	5h 11′ 30″	3425	115,43	13,2	0,756	20,181	
	54′	2335	115,40	13,0			
IV	5h 16′	8615	115,41	13,2			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	5h 34′		115,49	13,1	0,630	20,287	
	5h 52′		115,46	13,4	0,636	20,290	
	6h 10′	10950	115,41	13,2	0,633	20,289	
	54′	2335	115,47	13,2			
V	6h 15′	Letzte Kammerluft			0,618	20,308	Während des Versuches kein Urinieren und keine Nahrungsaufnahme.
					0,616	20,294	
					0,617	20,301	

Tabelle XXII. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2h 15′ — 3h 15′	2234,1	—	—	—	—	—	Ruhe.
II	3h 15′ — 4h 15′	2193,9	11,23	3,53	12,26	3,86	0,916	Auch Ruhe.
III	4h 15′ — 5h 15′	2248,3	16,32	5,13	17,27	5,43	0,945	Muskelarbeit in den letzten 40 Min.
IV	5h 15′ — 6h 15′	2246,9	13,55	4,26	14,92	4,69	0,908	Wieder Ruhe.
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,899	—
Zunahme des Gaswechsels in den letzten 2 Stunden	III. Std.		5,09	1,60	5,01	1,57	1,016	
	IV. „		2,32	0,73	2,66	0,83	0,872	
	Mittelwert		3,71	1,17	3,84	1,20	0,966	

X. Versuch vom 28. März 1916.

Fr. F. M. 22 Jahre. 46,5 kg.

Klinische Diagnose: gebesserte Chlorose und Fluor albus. — Hämoglobingehalt 72/80 = 90% nach Sahli (von Dr. von Muttach).

Gaswechsel bei größerer Muskelarbeit untersucht.

Tabelle XXIII. Analytische Daten.

Nr.	Zeit	Stand der Gasuhr in Liter	Thermobarograph	Temp. der Kammer °	Luftanalyse CO_2 %	Luftanalyse O_2 %	Bemerkungen
	Nachm.						
I	2^h 15′	1385	114,26	10,6	nicht analysiert		Sitzen und Lesen (Ruhe).
	2^h 34′	2130	114,32	11,0			Akkumulator auf 120 Volt.
	2^h 53′	2960	114,49	11,5			
	3^h 10′	3675	114,49	11,8			Am Ende der Stunde Ventilator 10 Min. ausgeschaltet.
	55′	2290	114,39	11,2			
II	3^h 13′ 30″	3820	114,55	11,8			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	3^h 31′		114,60	12,0	0,523	20,390	
	3^h 49′		114,42	12,0	0,527	20,392	
	4^h 7′ 30″	6100	114,33	12,0			
	54′	2280	114,48	12,0	0,525	20,391	
III	4^h 12′ 30″	6305	114,33	12,0			Sitzen und Gewichtsheben in den ersten 40 Min.
	4^h 30′		114,22	12,5	0,736	20,199	Mit je 4 Min. Pause 10 mal 10 zwei 5 Kilogewichte vom Boden auf das Wandbrett emporgehoben.
	4^h 48′		114,15	12,5	0,733	20,193	
	5^h 5′ 30″	8505	114,08	12,5			
	53′	2200	114,20	12,4	0,735	20,196	
IV	5^h 10′	8690	114,09	12,5			Sitzen und Lesen (Ruhe).
	5^h 28′		113,98	12,5	0,657	20,271	
	5^h 46′		113,87	12,4	0,663	20,261	
	6^h 4′	10965	113,88	12,2			
	54′	2270	113,96	12,4	0,660	20,260	
V	6^h 10′	Letzte Kammerluft			0,572	20,343	Während des Versuches kein Urinieren; kein Essen und kein Trinken.

Tabelle XXIV. Ergebnis.

Nr.	Zeit	Ventilation pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro Stunde in Liter	CO_2 Produktion pro kg und Min. in ccm	O_2 Verbrauch pro Stunde in Liter	O_2 Verbrauch pro kg und Min. in ccm	R. Q.	Bemerkungen
I	2^h 10′ — 3^h 10′	2183,9	—	—	—	—	—	Ruhe.
II	3^h 10′ — 4^h 10′	2213,0	10,95	3,93	12,48	4,47	0,878	Auch Ruhe.
III	4^h 10′ — 5^h 10′	2181,0	15,38	5,51	16,47	5,90	0,934	Muskelarbeit in den ersten 40 Min.
IV	5^h 10′ — 6^h 10′	2218,3	13,98	5,01	15,22	5,45	0,918	Wieder Ruhe.
V	Letzte Kammerluft	—	—	—	—	—	0,886	—
Zunahme des Gaswechsels in den letzten 2 Stunden	III. Std.		4,43	1,58	3,99	1,43	1,110	
	IV. „		3,03	1,08	2,74	0,93	1,106	
	Mittelwert		3,73	1,33	3,37	1,21	1,107	

Vergleichung des respiratorischen Stoffwechsels bei leichter Arbeit von normalen und anämischen Menschen.

Tabelle XXV.
Normale Menschen.

Nr.	Versuchsperson	Alter	Körpergewicht kg	Zunahme der CO_2-Produktion in Liter	Zunahme der CO_2-Produktion pro kg in ccm	Zunahme des O_2-Verbrauches in Liter	Zunahme des O_2-Verbrauches pro kg in ccm	Verhältnis der Zunahme der CO_2-Produktion zum O_2-Verbrauche $\frac{\Delta CO_2}{\Delta O_2}$	Bemerkungen
V	Frl. H. M.	22	61,5	5,93	96,4	6,92	112,5	0,857	} kleinere Arbeit
VI	Hr. M. L.	23	61,0	8,85	145,1	8,17	133,9	1,083	} größere Arbeit
VII	Hr. G. F.	30	71,5	8,22	115,0	8,69	121,5	0,946	
	Mittelwert		66,3	8,54	130,1	8,43	127,7	1,015	

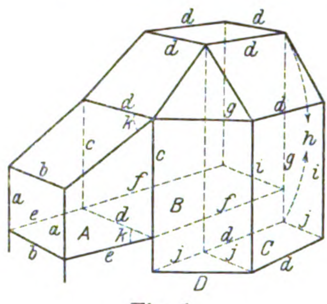
Tabelle XXVI.
Anämische Menschen.

Nr.	Versuchsperson	Alter	Körpergewicht kg	Zunahme der CO_2-Produktion in Liter	Zunahme der CO_2-Produktion pro kg in ccm	Zunahme des O_2-Verbrauches in Liter	Zunahme des O_2-Verbrauches pro kg in ccm	Verhältnis der Zunahme der CO_2-Produktion zum O_2-Verbrauche $\frac{\Delta CO_2}{\Delta O_2}$	Bemerkungen
VIII	Fr. M. S. (Hb.-Gehalt 35/70)	43	45,5	4,68	102,9	4,63	101,8	1,011	} kleinere Arbeit
IX	Frl. L. C. (Hb.-Gehalt 62/80)	20	53,0	7,41	139,8	7,67	144,7	0,966	} größere Arbeit
X	Fr. F. M. (Hb.-Gehalt 72/80)	22	46,5	7,46	160,4	6,73	144,7	1,109	
	Mittelwert		49,8	7,44	150,1	7,20	144,7	1,038	

Anhang.

Ausrechnung des Kammerinhaltes.

$a =$ 48,5 cm $\quad b =$ 68,5 cm $\quad c =$ 84,0 cm
$d =$ 74,0 cm $\quad e =$ 77,5 cm $\quad f =$ 122,5 cm
$g =$ 128,5 cm $\quad h =$ 148,0 cm $\quad i =$ 103,5 cm
$j =$ 48,5 cm $\quad k =$ nur etwas spitzwinklig.



Eig. 1.

Die Form und Größe der Kammer wird in der oben bezeichneten schematischen Fig. 1 gezeigt. Wird die Kammer in 4 Körper, die respektiv auf der Basis von A, B, C und D stehen, geteilt, so kann man leicht die Dimension der Kammer durch die bekannte Gleichung folgendermaßen berechnen:

Körper mit Basis

$$A = \frac{1}{2}(a + c) \cdot b \cdot e + \frac{1}{2} a \cdot (d - b) \cdot e + \frac{1}{3}(c - a) \cdot (d - b) \cdot e$$

$$= \frac{1}{6} e \cdot b \cdot (2a + c) + d \cdot (a + 2c) = 367{,}1 \ L.$$

Körper mit Basis

$$B = c \cdot d \cdot f + \frac{1}{2}(d + f) \cdot d \cdot (g - c)$$

$$= \frac{1}{2} d \cdot (d + f) \cdot g + (f - d) \cdot e = 1085{,}0 \ L.$$

Körper mit Basis

$$C = \frac{1}{2}(h + i) \cdot j \cdot d = 451{,}3 \ L.$$

Körper mit Basis

$$D = \frac{1}{2} j^2 \cdot i + \frac{1}{6}(g - i) \cdot j^2 = \frac{1}{6} j^2 \cdot (g + 2i) = 131{,}5 \ L.$$

also Inhalt der Kammer $= A + B + C + D = 2034{,}9 \ L.$

Aber beim Versuch kommen in die Kammer ein Bett- und Lehnpolster, ein Kissen, eine wollene Bettdecke usw. außer dem Körper der Versuchsperson hinein, wodurch sich der Inhalt der Kammer selbstverständlich verkleinert. Meine Resultate der Luftanalyse zeigen, daß beim Ruheversuch die Kammerluft in der zweiten Versuchsstunde schon eine konstante Zusammensetzung erhält, wobei die Luftanalyse verwertbar ist.

Studien zur allgemeinen Vergiftungslehre.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 18. Mai 1916.)

Um das Wesen eines Vergiftungsvorganges zu erkennen, ist es notwendig, den eigentlichen Angriffspunkt des Giftes genau zu ermitteln. Dabei kommen zwei verschiedene Gesichtspunkte in Betracht. Zunächst wäre es wünschenswert, die Konstitution der Gewebsgruppierung zu kennen, deren Reaktion mit dem Gift die Funktionen des Lebewesens stört. Daneben ist es eine Vorbedingung für das analytische Eindringen in das Vergiftungsphänomen, daß man die Teilfunktion herausfindet, die direkt von dem Gift beeinflußt wird, während andere Teilfunktionen erst sekundär durch die Beeinträchtigung der eigentlich betroffenen Funktion leiden.

Es wird verständlicher werden, worauf wir hinaus wollen, wenn wir gleich ein bestimmtes und möglichst einfaches Beispiel heranziehen. Und zwar werden wir uns sofort dem Objekt zuwenden, an dem wir unsere Studien ausgeführt haben, nämlich den Bakterien. Um diese ja hinreichend komplizierten Lebewesen einem analytischen Studium zugänglich zu machen, müssen wir ihre Funktionen schematisch vereinfacht auffassen. Zu diesem Zwecke wollen wir sie uns als Organismen vorstellen, die mit Hilfe von in ihnen vorhandenen Wirkungsfaktoren, die man Fermente nennt, chemische Substanzen verändern. Ihre Lebenstätigkeit spricht sich darin aus, daß sie diese Fermente dauernd selbst durch chemische Prozesse bilden, daß sie sich aus dem von ihnen umgesetzten, chemischen Material erhalten und durch Fortpflanzung neu bilden können.

Dieses Schema führt nun gleich zu einer prinzipiellen Einteilung der Vergiftungsmöglichkeiten. Wir können drei Typen unterscheiden. Erstens die brutalste Form, wenn ein Gift ähnlich wie eine mechanische Einwirkung die grobe Struktur der Zelle aufhebt und damit den Weiterbestand und die Fortpflanzung dauernd vernichtet. Eine zweite Gruppe würde die Gifte umfassen, deren Einwirkung die Fortpflanzung nur hemmt, aber nicht dauernd zerstört und gleichzeitig die Bildung der Fermente behindert. Mit dieser Zusammenfassung greifen wir allerdings schon unseren späteren Ausführungen vor. Denn rein theoretisch betrachtet könnten hier zwei durchaus getrennte Dinge vorliegen. Aber aus unseren Versuchen sind wir zu der Vorstellung gekommen, daß hier ein im Wesen einheitlicher Vorgang besteht: Die Entwicklungshemmung einer Bakterienkultur besteht dann, wenn die Fermentbildung der Bakterien gestört ist. Eine dritte Gruppe von Giftwirkungen sind nun die spezifischen, nämlich die Gifte, die mit den fertigen Fermenten in direkte chemische Reaktion treten und dadurch ihre Wirksamkeit ausschalten.

Um Versuche zur Klärung der hier aufgeworfenen Fragen durchzuführen, mußten nach jeder Richtung die einfachsten Verhältnisse benutzt werden. Als Bakterienmaterial benutzten wir dieselbe Kultur harnstoffspaltender Bakterien, die wir in früheren Arbeiten verwandt hatten[1]). Als Harnstoff spaltendes Ferment die Soja-Urease, die wir uns immer selbst aus den Sojabohnen darstellen. So haben wir einen Mikroorganismus mit einer Fermentwirkung, die wir mit einer entsprechenden, isolierten Fermentwirkung gut vergleichen können. Natürlich wäre es noch erwünschter gewesen, wenn man wirksame Zellen mit dem aus ihnen isolierten Ferment hätte vergleichen können, also etwa die Zuckerspaltung durch Hefe mit der Zymasenwirkung. Aber die Überlegung zeigt sofort, daß hier überall die Bedingungen zu verwickelt sind, als daß man die Versuche mit Aussicht auf Erfolg durchführen könnte.

Als Gift habe ich zuerst das Sublimat gewählt, und zwar auf Grund der Erfahrungen, die ich bei den Versuchen gemacht hatte, die Hata[2]) in meinem Laboratorium ausgeführt

[1]) Diese Zeitschr. **74**, 109.
[2]) Diese Zeitschr. **17**, 156.

hat. Wir hatten damals in einer großen Anzahl von Versuchsreihen gesehen, daß die Sublimatvergiftung der Fermente eine Reaktivierung erlaubt. Selbst für längere Zeit inaktivierte Fermente konnten noch reaktiviert werden, wenn man die mit Sublimat vergifteten Fermente mit Stoffen zusammenbrachte, mit denen das Sublimat komplexe Verbindungen bilden kann. Die neben dem Sublimat angewandten Gifte, das Cyankalium und das Nickeloxydul, wurden herangezogen, weil sich aus den Ergebnissen der Sublimatversuche allmählich entsprechende Fragestellungen ergaben. Es ist daher zweckmäßiger, erst später auf diese Substanzen einzugehen.

I. Die Einwirkung des Sublimats auf die Soja-Urease.

Sublimat macht schon in sehr kleinen Mengen die Urease unwirksam.

Die allgemeine Versuchsanordnung war die gleiche wie in meinen früheren Arbeiten. Stets wurde, wenn nicht lebende Bakterien angewandt wurden, je 1 ccm Toluol zugefügt, ferner 1 ccm Olivenöl, um das Schäumen beim Destillieren zu verhindern[1]).

Ein Versuchsbeispiel wird nun zeigen, daß die Wirkung des Sublimats auf die Urease sehr groß ist.

Versuch.

Zu je 10 ccm einer 0,3 $^0/_0$igen Ureaselösung werden getan

1. in 2 Proben 0,5 ccm einer Sublimatlösung 1 : 10000 = 0,05 mg Sublimat + 0,5 ccm Wasser;
2. in 2 Proben 1 ccm einer Sublimatlösung 1 : 10000 = 0,1 mg Sublimat;
3. in 2 Proben 1 ccm Wasser.

Dann kommt zu allen Proben je 20 ccm einer 2 $^0/_0$igen Harnstofflösung.

Es wird in 24 Stunden Ammoniak gebildet, ausgedrückt in ccm $^1/_{10}$ Säure

[1]) Alle Giftproben wurden immer gleichzeitig, wie auch die Tabellen zeigen, mit Kontrollen ohne Gift angesetzt. Bei der Durchsicht der Tabellen wird man bemerken, daß einige Versuche größere Ausschläge als die üblichen zeigen. Namentlich bei den Bakterienversuchen tritt das hervor. Diese absolut höheren Zahlen, die ja den Vergleich in keiner Weise hindern, stammen von 48stündigen Versuchen.

1. 1,2 ccm und 1,2 ccm
2. 1,1 ccm und 1,3 ccm
3. 62,2 ccm und 62,5 ccm

Der Kürze und Übersicht halber fassen wir die Gesamtheit der entsprechenden Versuche in einer Tabelle zusammen. Das wird auch den Vergleich mit den späteren Versuchsreihen erleichtern. Die Sublimatzahlen bedeuten immer die wirklich zugefügten Mengen. Da die Flüssigkeitsmenge immer 31—32 ccm betrug, würde man nur mit 3 multiplizieren müssen, wenn man den Sublimatgehalt in 100 ccm Flüssigkeit erfahren wollte.

Sublimatmenge	Mit Sublimat	Ohne Sublimat	Sublimatmenge	Mit Sublimat	Ohne Sublimat
20 mg	1,6	52,15	0,03 mg	2,2	63,5
	2,0	53,45		2,4	67,0
5 "	1,25	58,6	0,03 "	1,2	64,1
	1,30	59,3		1,3	65,2
2 "	0.8	59,9	0,025 "	11,6	63,5
	1,1	61,0		14,9	67,0
1 "	1,2		0,02 "	28,5	63,5
	1,4			29,6	67,0
0,5 "	1,0	57,7	0,02 "	67,2	74,0
	1,1			69,5	74,6
0,25 "	1,2	58,1	0,02 "	60,0	64,5
	1,3			60,5	65,2
0,1 "	1,1	62,2	0,01 "	61,0	64,5
	1,3			63,0	65,2
0,05 "	1,2	62,5	0,005 "	64,8	60,3
	1,1			65,3	62,0
0,04 "	1,7	74,0	0,005 "	63,9	64,4
	2,9	74,6		64,1	64,5
0,04 "	1,2	64,1	0,005 "	64,4	64,4
	1,3	65,2		64,4	65,3

Danach wäre also bei unserer Versuchsanordnung 0,03 mg Sublimat eine sicher und vollkommen die Fermentwirkung von 30 mg unserer Urease unwirksam machende Dosis. Die Konzentration dieser Sublimatlösung beträgt 1 : 1 Million. Ein Milligramm der Urease würde ein Tausendstel Milligramm Sublimat beanspruchen. Selbstverständlich sollen diese Zahlen nichts über die Menge wirksamen Fermentes aussagen, die in Reaktion tritt, da wir ja nicht wissen, wieviel von dem Präparat wirkliche Urease, wieviel Beimengung ist. Umgekehrt wird

aber die Sublimatzahl, wie wir die Menge der Urease nennen können, die durch 1 mg Sublimat unwirksam gemacht wird, beim Vergleich verschiedener Ureasepräparate einen Anhalt über die Reinheit des Fermentes geben können. Denn bei den enormen Verdünnungen, bei denen das Sublimat noch wirkt, kann man anscheinend die Begleitsubstanzen des Fermentes bei den verschiedenen Ureasen bei dieser Berechnung als reagierend ziemlich vernachlässigen. Auch werden wir noch sehen, daß mit Zunahme der Fermentmenge sofort die Sublimatmenge wachsen muß, daß also nicht etwa die Sublimatkonzentration der Lösung, sondern wirklich das Verhältnis zwischen Ferment und Sublimat entscheidend ist.

Es ist sehr auffallend, wie scharf die Grenze der wirksamen Sublimatdosis ist. 0,03 mg Sublimat haben wir noch als vollkommen wirksam kennen gelernt, 0,02 mg bewirkt nur noch eine mäßige Abschwächung. Eine Verstärkung haben wir auch bei den allerkleinsten Sublimatdosen nie sicherstellen können. Dasselbe haben wir auch bei zahlreichen Versuchen Hatas gesehen. Niemals wurde eine Verstärkung beobachtet.

Ein Versuchsbeispiel mag nun zunächst die oben gemachte Angabe belegen, daß mit Zunahme der Ureasemenge die für eine bestimmte Ureasequantität ausreichende Sublimatmenge nicht mehr zur Aufhebung der Fermentwirkung ausreicht.

Versuch.

Es werden gemischt:

1. 1 ccm Sublimat (1 : 25000), 10 ccm Wasser, 10 ccm Urease (0,3 %).

2. 1 ccm Sublimat (1 : 25000), 10 ccm Wasser, 20 ccm Urease (0,3 %).

Nach 5 Minuten zu allen Proben 20 ccm Harnstoff (2 %).

Es wird gefunden bei 10 ccm Urease 1,4 und 1,6 ccm
bei 20 ccm " 52,0 " 52,7 "

Die Sublimatinaktivierung der Urease ist nun durchaus reaktivierbar, wie zahlreiche Versuche zeigten. Wir übergehen Versuche, bei denen wir die Reaktivierung sehr bald nach der Inaktivierung vorgenommen haben und schildern einen Versuch, bei dem wir erst nach einer einstündigen Sublimateinwirkung die Reaktivierung einleiteten. Als Reaktivierungsmittel bewährte sich das Cyankalium.

Versuch.

Zu je 10 ccm Ureaselösung werden gefügt:

1. 2 ccm Sublimat (1 : 50000), nach einer Stunde 1 ccm Cyankalium (1 %), reinstes Kahlbaumsches Präparat mit Garantieschein.

2. 2 ccm Sublimat (1 : 50000), nach einer Stunde 1 ccm Kochsalzlösung (0,85 %).

3. 2 ccm Wasser, nach einer Stunde 1 ccm Cyankalium wie bei 1.

Zum Schluß überall nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff (2 %).

Es werden gefunden bei

1. 60,3 und 60,9 ccm
2. 0,5 und 1,3 ccm
3. 40,0 und 41,6 ccm

Es wurde also eine ausgezeichnete Ureasewirkung erhalten. Höchstens kann es auffallen, daß die Wirkung noch so erheblich die Kontrolle übertrifft, bei der nur Cyankalium hinzugefügt wurde.

Wie Cyankalium auf die Urease wirkt, werden wir gleich erfahren. Jedenfalls ist sicher, daß eine intensive Sublimatwirkung noch nach einer Stunde sich durchaus quantitativ wieder aufheben läßt.

II. Die Einwirkung des Cyankaliums auf die Urease.

Im Gegensatz zum Sublimat ist das Cyankalium kein Gift für die Urease, wie die folgende Tabelle zeigt. Die Anordnung der Versuche entspricht den Sublimatversuchen.

Tabelle.

Cyankaliummenge	Mit Cyankalium	Ohne Cyankalium	Cyankalium menge	Mit Cyankalium	Ohne Cyankalium
100 mg	20,8	69,0	0,1 mg	62,2	56,0
	21,1	69,1		63,0	56,4
10 „	66,1	63,4	0,01 „	63,1	56,0
	66,2	64,7		63,5	56,4
5 „	67,5	63,4	0,002 „	62,7	63,5
	68,4	64,7		63,6	63,8
1 „	63,5	60,4	0,002 „	68,4	69,0
		60,8		69,2	69,1
0,1 „	59,8	60,4			
	60,7	60,8			

Nach den in dieser Tabelle zusammengestellten Werten kann darüber kein Zweifel bestehen, daß Cyankalium kein Ureasegift ist. Denn die immer noch nicht vollkommene Schädigung durch die enorme Dosis von 100 mg kann nicht auf die spezifische Cyankaliumwirkung bezogen werden. Dagegen ist unverkennbar, daß das Cyankalium eine deutliche, wenn auch nicht bedeutende Verstärkung der Ureasewirkung bedingt. Wenn wir in der Tabelle die Zahlen von 10 mg bis 0,01 mg betrachten, so sehen wir in fünf von sechs Versuchen ganz sicher außerhalb der Fehlergrenzen diese Verstärkung. Es kann nicht verwundern, daß diese Wirkung nach unten ihre Grenzen hat; sie wird bei 0,002 mg Cyankalium in beiden Versuchen vermißt.

III. Einwirkung von Sublimat und von Cyankalium auf die Harnstoffspaltung durch Bakterien.

Bevor wir an eine theoretische Besprechung dieser Resultate gehen, ist es notwendig, die parallelen Untersuchungen an Harnstoff spaltenden Bakterien mitzuteilen. Wir beginnen mit dem Einfluß des Sublimats auf die bakterielle Harnstoffspaltung. Es wurde immer 1 ccm Bouillonkultur verwandt, die Flüssigkeitsmenge war dieselbe wie bei den Ureaseversuchen, stets wurden frische Kulturen benutzt.

Tabelle.

Sublimatmenge	Mit Sublimat	Ohne Sublimat	Sublimatmenge	Mit Sublimat	Ohne Sublimat
0,16 mg	1,9	67,0	0,01 mg	65,0	69,0
	2,3	68,4		65,9	70,0
0,08 „	1,7	40,0	0,01 „	74,8	67,85
	2,0	40,2			69,0
0,04 „	23,9		0,01 „	70,0	67,6
	25,0			73,8	71,8
0,04 „	25,7	43,8	0,01 „	68,2	69,1
	30,6	45,1		69,7	70,1
0,02 „	39,1		0,005 „	54,4	57,5
	41,4			56,3	57,9
0,01 „	74,0	72,9			
	75,8	75,0			

Die Werte, die die Harnstoffspaltung der Bakterien aufheben, liegen, wie ein Vergleich der Tabellen ergibt, einigermaßen in der gleichen Größenordnung wie bei der Urease. Ein absoluter Vergleich der Zahlen ist natürlich unmöglich, da wir bei den Bakterien noch weniger als bei den Ureasepräparaten über die Menge des in Wirksamkeit tretenden Fermentes aussagen können. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, haben wir uns ernstlich bemüht, zu prüfen, ob bei den Bakterien kleinste Sublimatmengen eine Steigerung der Wirkung bewirken, aber ohne Erfolg. Bei den Bakterien erhält man viel eher als bei der Urease mangelhaft stimmende Kontrollen, die wir doch in unserer Tabelle aufgenommen haben, um eine Beurteilung der Ergebnisse zu erleichtern. Berücksichtigt man diese Schwankungen, die anscheinend bei Versuchen mit Einwirkung geringster Giftmengen auf die Bakterienfermente besonders sich geltend machen, so kann man aus den Werten nicht auf eine Steigung der Fermentwirkung durch kleinste Sublimatmengen schließen.

Wir haben auch hier Reaktivierungsversuche gemacht. Bevor wir sie besprechen, ist es notwendig, die Cyankaliumversuche mit Bakterien mitzuteilen. Auch das soll der Kürze halber tabellarisch erfolgen.

Tabelle.

Cyankaliummenge	Mit Cyankalium	Ohne Cyankalium	Cyankaliummenge	Mit Cyankalium	Ohne Cyankalium
10 mg	1,6	40,0	0,01 mg	59,8	84,0
	2,5			61,0	
5 „	1,4	40,9	0,005 „	78,0	85,6
	1,9			78,5	
1 „	5,1	57,2	0,001 „	79,3	
		62,6		80,2	
1 „	5,5	70,6	0,0005 „	64,9	67,6
	5,5	72,9		69,0	71,8
0,1 „	8,8	57,2	0,0005 „	67,0	69,1
	9,0			68,3	70,1
0,05 „	47,7	62,6	0,0001 „	68,0	76,6
	48,3			68,0	71,8
0,05 „	51,2	70,6	0,0001 „	69,7	69,1
	52,5			70,1	70,1
0,01 „	66,6	72,9			
	68,4				

Cyankalium schädigt also die Harnstoffspaltung durch Bakterien, während es für die Urease der Sojabohne ungiftig ist. Seine Wirksamkeit gegenüber der bakteriellen Harnstoffspaltung steht deutlich hinter der Wirksamkeit des Sublimats zurück. Eine Steigerung der Wirkung durch sehr kleine Dosen war nicht festzustellen.

Es galt nunmehr zu prüfen, ob die Sublimatwirkung auf die bakterielle Harnstoffspaltung sich durch Cyankalium aufheben läßt. Bei der Anstellung dieser Versuche mußte natürlich berücksichtigt werden, daß das Cyankalium selbst eine Giftwirkung gegenüber den Bakterien besitzt. Diese Schwierigkeit bestand ja bei der Urease nicht, da das Cyankalium hier ungiftig war. Aber auch bei der bakteriellen Harnstoffspaltung bedingt die Giftigkeit des Cyankaliums keine Versuchsstörung, weil sie gegenüber der Giftwirkung des Sublimats zu unerheblich ist. Man kann die Versuche so einrichten, daß die notwendigen Cyankaliummengen keine Schwächung der Harnstoffspaltung bewirken.

Versuch.

Zu je 1 ccm einer eintägigen Kultur werden gefügt

1. 1 ccm Sublimat (1 : 6250), 10 ccm Wasser; nach 5 Minuten 0,2 ccm Cyankalium (1 : 4000).

2. 1 ccm Sublimat (1 : 6250), 10 ccm Wasser, nach 5 Minuten 0,1 ccm Cyankalium (1 : 4000), 0,1 ccm Wasser.

3. 1 ccm Sublimat (1 : 6250), 10 ccm Wasser, nach 5 Minuten 0,2 ccm Wasser.

4. 11 ccm Wasser, nach 5 Minuten 0,2 ccm Wasser.

Zum Schluß überall nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff.

Es werden gefunden bei

1. 2,5 und 2,8 ccm
2. 1,5 und 1,8 ccm
3. 2,0 und 2,4 ccm
4. 97,7 und 98,5 ccm

Der Versuch zeigt also, daß Dosen von Cyankalium, die selbst unschädlich für die Harnstoffspaltung durch Bakterien sind, nicht imstande sind, die Sublimatschädigung aufzuheben. Es besteht also ein ganz unverkennbarer Unterschied zwischen der Möglichkeit der Reaktivierung der Urease und der Unmöglichkeit der Reaktivierung der bakteriellen Harnstoffspaltung.

IV. Entwicklungshemmung und Fermenthemmung bei Bakterien.

Die Dosen, in denen Sublimat und Cyankalium die bakterielle Harnstoffspaltung verhindern, sind so klein, daß von vornherein anzunehmen war, daß die Bakterien durch diese Giftmengen nicht abgetötet werden. Es war wahrscheinlich, daß es sich nur um eine Entwicklungshemmung handeln würde. Jedenfalls schien es richtig, die Frage für die bei meinen Versuchen vorliegenden Bedingungen direkt zu prüfen. Denn die Parallelität zwischen der bakteriellen Fermentwirkung und der Entwicklungshemmung dürfte von großer Bedeutung sein. Man wird wohl annehmen, daß in der Ausschaltung der Fermentwirkungen das eigentliche Wesen der Entwicklungshemmung besteht oder mindestens einer ihrer wesentlichsten Faktoren. Auf die Frage, wie die Beziehung der Gifte zu der Fermentausschaltung der Bakterien aufzufassen ist, kommen wir noch zurück.

Die Versuche zur Prüfung, ob bei den Giftdosen, welche die bakterielle Harnstoffspaltung verhindern, die Bakterien nur gehemmt in ihrer Entwicklung sind, wurden in ihrer Anordnung ganz den früheren Versuchen angepaßt. Es wurden Gemische mit Giftdosen, die sich in vorangegangenen Versuchen als fermenthemmend erwiesen hatten, hergestellt. Dann wurde bei einem Teil der Proben direkt die Aufhebung der Fermentwirkung noch besonders sichergestellt, bei anderen Proben nach 24 stündigem Aufenthalt der Gemische im Brutschrank nicht die Ammoniakbestimmung ausgeführt, sondern aus den Kolben einige Ösen auf frische Bouillon übertragen. In 1 bis 3 Tagen wurde dann mit den inzwischen gut gewachsenen Kulturen Prüfung der Harnstoffspaltung vorgenommen.

Da wir immer konstante Resultate erhielten, begnügen wir uns mit der Wiedergabe je eines Sublimat- und eines Cyankaliumversuches.

Versuch.

Es werden gemischt 1 ccm Bouillonkultur, 10 ccm Wasser, 1 ccm Sublimat (Verdünnung 1 : 12500), nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff (2 %).

Zwei Proben werden nach 24 Stunden auf Harnstoffspaltung untersucht. Es wird erhalten: 0,3 und 0,7 ccm Ammoniak.

Von 2 anderen Proben wird nach dem gleichen Brutschrankaufenthalt auf Bouillon abgeimpft. Nach zweitägigem Wachstum werden je 2 ccm Bouillon zum Versuch entnommen.

Nach 24 stündigem Brutschrankaufenthalt wird erhalten:

90,2 und 92,7 ccm

Die Untersuchung der Kulturen ergab hier, wie in allen entsprechenden Versuchen, daß die Kultur rein geblieben war.

Versuch.

Es werden gemischt 1 ccm Bouillonkultur, 10 ccm Cyankaliumlösung (1 : 10000), nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff (2 %).

Zwei Proben werden nach 24 Stunden geprüft: 4,2 und 5,0 ccm. Von 2 anderen Proben wird nach gleicher Zeit auf Bouillon abgeimpft. Nach eintägigem Wachstum wird je 1 ccm Bouillon zum Versuch entnommen.

Nach 24 stündigem Brutschrankaufenthalt wird erhalten:

56,2 und 58,7 ccm, — von einer anderen Probe 56,0 und 57,0 ccm.

Es steht also fest, daß die Ausschaltung der Fermentwirkung der Bakterien stattfindet, ohne daß die Bakterien dabei abgetötet werden. Bringt man sie nach längerer Zeit der Gifteinwirkung wieder auf einen frischen giftfreien Nährboden, so entstehen wieder üppige Kulturen von fermentkräftigen Bakterien.

V. Fermentbildungsgifte und Fermentgifte.

Es scheint mir nunmehr angebracht, eine klare Gruppierung der Vergiftungstypen zu versuchen, die das Leben der Zellen zu schädigen vermögen. Nicht in die Untersuchung einbezogen haben wir die ganz brutalen Einwirkungen, welche die Zellstruktur derartig erheblich zerstören, daß die Basis für eine spätere Wiederaufnahme der Zellfunktionen fortfällt. Neben den Gewalteingriffen wären aber nun noch zwei Typen zu unterscheiden, einmal die Einwirkungen auf die Bildung der Enzyme und außerdem die Inaktivierung der fertigen Enzyme. Nun ist es eine allgemeine Erscheinung in der Natur, daß, je spezifischer ein Vorgang in seiner Wirkung ist, er auch um so empfindlicher in bezug auf die Innehaltung der notwendigen Bedingungen seiner Wirkung ist. Oder exakter ausgedrückt: Spezifischere

Wirkungen erfordern auch entsprechende spezifischere Vorbedingungen, also besonders charakteristische Konstitutionen und Konfigurationen usw., während für weniger spezifische Wirkungen dieselbe Constitution für eine Reihe von Wirkungen die ausreichende Vorbedingung sein kann. Wenn nun die Konstitution spezifischer ist, so muß auch ihre Schädigung durch Gifte anders gestaltet sein als bei dem weniger spezifischen Prozeß. Wir verstehen nunmehr, daß die Apparate, welche die Fermente bilden, die Fermentbildner, durch Sublimat und Cyankalium, die fertige Urease der Sojabohne nur durch Sublimat, aber nicht durch Cyankalium geschädigt wird. Gewiß ist der Einwand möglich, daß die Urease der Sojabohne anders gebaut sein kann, als die Bakterienurease. Aber dieser Einwand ist bei der enormen Wirkungsspezifität der Ureasen unwahrscheinlich, und umgekehrt können wir als Analogie für unser Vergiftungsschema der Zellfaktoren den Gesamtorganismus eines Tieres heranziehen, bei dem verschiedene Gifte auf den allgemeinen Stoffwechsel wirken und es daneben spezifische Organgifte gibt.

Für die Wesensgleichheit der Soja-Urease und der Bakterienurease habe ich aber auch noch einen direkten Beweis führen können. Für die Soja-Urease ist es durch die Untersuchungen von Armstrong und Labberté bekannt, daß sie streng spezifisch nur Harnstoff, aber nicht Acetamid, Thioharnstoff und Methylharnstoff spaltet. Die gleiche Spezifität fand ich nun auch für die Harnstoffspaltung durch die Bakterien, wie folgender Versuch zeigt.

Versuch.

Es werden gemischt 1 ccm einer dreitägigen Kultur, 10 ccm Wasser mit 20 ccm einer 2 $^{0}/_{0}$igen Lösung von

1. Acetamid
2. Thioharnstoff
3. Methylharnstoff
4. Harnstoff

Ergebnis nach 24 stündiger Einwirkung:

1. 0,1 und 0,2 ccm
2. 0,1 und 0,2 ccm
3. 0,9 und 1,0 ccm
4. 90,4 und 90,6 ccm

Für unsere Annahme, daß die Giftwirkungen auf die Bakterien einen andern Angriffspunkt hat, als die fertigen Fermente,

spricht auch die von uns festgestellte Unmöglichkeit, die Sublimatschädigung der Bakterien zu reaktivieren. Die Bedeutung dieses Befundes wird nach zwei Richtungen durch unsere anderen Beobachtungen gestützt. Auf der einen Seite ist die Sublimatschädigung der bakteriellen Harnstoffspaltung nicht identisch mit der Vernichtung der Bakterien, man kann die nur in ihrer Entwicklung gehemmten Bakterien auf sublimatfreiem Nährboden wieder dazu bringen, Harnstoff zu spalten. Andrerseits habe ich früher mit Hata gezeigt, daß die Reaktivierbarkeit der Sublimatschädigung eine Erscheinung ist, die bei den Fermenten sehr verbreitet ist.

VI. Inaktive Fermentverbindungen und Vergiftungen von Fermenten durch Besetzung ihrer aktiven Gruppen.

Die Studien über die Vergiftung der Fermente haben auch, abgesehen von der Bedeutung über das Wesen der Giftwirkungen, Interesse, weil sie einen Weg eröffnen, über die Konstitution der wirksamen Fermentgruppen etwas zu erfahren. Die Beobachtung, daß das durch Sublimat inaktivierte Ferment dadurch wieder wirksam gemacht werden kann, daß man Cyankalium hinzufügt, ist wohl kaum anders zu verstehen, als daß das Cyankalium eine komplexe Verbindung im Sinne der Wernerschen Lehren mit dem Sublimat eingeht. Ich glaube, daß diese Annahme mit derselben Berechtigung wie alle chemischen Hypothesen zu der Vorstellung ausgebaut werden kann, daß das Sublimat auch mit dem Ferment eine komplexe Verbindung eingeht und durch Besetzung der komplexbildenden Fermentgruppe das Ferment inaktiv wird. Dreierlei spricht in diesem Sinne:

1. Sind die Komplexbildungen und die Trennung komplexer Verbindungen Reaktionen, die sehr häufig ohne große Veränderungen der reagierenden Gruppen einhergehen, so daß die Möglichkeit des Spiels der Inaktivierungen und Reaktivierungen plausibel erscheint.

2. Ist nach den Angaben der Literatur die Harnstoffspaltung durch die Urease keine monomolekulare Reaktion, so daß es auch plausibel ist, daß die Fermentgruppe zu Bindungsreaktionen disponiert ist. Jedoch bitte ich, diesen Punkt nur als nebensächlich und nicht entscheidend anzusehen.

3. Besteht ein festes Verhältnis zwischen der Menge des Fermentes und der notwendigen Giftmenge. Es ist also nicht eine Giftkonzentration der Lösung, bei der das Ferment inaktiv wird, sondern eine bestimmte Menge Ferment wird immer durch eine bestimmte Menge Gift inaktiviert.

Meine Vorstellung von der Konstitution der Fermentgruppen und von dem Wesen ihrer Vergiftbarkeit habe ich nun auch als Arbeitshypothese benutzt. Ich mache die kühne Annahme, daß die Fähigkeit, mit Cyankalium komplexe Verbindungen zu bilden, eine Substanz zum Fermentgift machen würde. Geprüft habe ich diese Annahme, indem ich Nickel auf die Urease einwirken ließ. Die Gesichtspunkte, die mich bei der Auswahl des Nickels leiteten, werden sich aus der Schilderung der Versuche und aus der Klarheit der erhaltenen Resultate ergeben. Schon jetzt kann mit absoluter Bestimmtheit gesagt werden, daß der eingeschlagene Weg bei weiteren Studien noch eine Fülle von Resultaten liefern kann, und zwar Feststellungen, die an und für sich und nicht nur als Prüfung der aufgestellten Hypothesen Wert haben.

Zu den Versuchen diente reinstes Nickeloxydul, ein Präparat, das auch zur Katalyse nach Sabatier Verwendung findet. Es ist ein besonders feines Pulver, in Wasser praktisch unlöslich. Wir geben zunächst einen Versuch wieder, der die Dosen zeigt, in denen das Nickeloxydulpulver die Ureasewirkung aufhebt.

Versuch.

Es werden gemischt:

1. 0,15 Nickeloxydul,	10 ccm Urease (0,3 $^0/_0$),	2 ccm Wasser
2. 0,01 „	10 „ „ „	2 „ „
3.	10 „ „ „	2 „ „

Überall wird nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff (2 $^0/_0$) zugefügt. Es wird erhalten bei

1. 4,3 und 4,5 ccm
2. 24,0 und 25,3 ccm
3. 50,2 und 52,1 ccm

Also 0,01 Nickeloxydul hat zwar bereits eine abschwächende Wirkung, aber doch erst eine unvollkommene, während 0,15 eine starke Wirkung entfaltet. Das Resultat dieses Versuches entsprach den anderen Versuchen. Bei oberflächlicher Betrachtung könnte das als eine schwache Wirkung erscheinen. Wenn man

aber bedenkt, daß es sich um ein so gut wie unlösliches Pulver handelt, so ändert das schon die Sachlage. Vollkommen anders aber gestaltet sich das Bild, da wir zeigen können, daß nicht etwa das Ferment durch das Pulver aus der Lösung genommen und dadurch unwirksam gemacht wird. Denn wir werden gleich erfahren, daß das Ferment, wenn auch in latenter Form, quantitativ in der Lösung bleibt und aus ihr auch noch nach längerer Zeit wieder reaktiviert werden kann. Wir verzichten zunächst noch auf eine Erklärung dieser bemerkenswerten Tatsache und schildern erst die Versuche.

Durch besondere Kontrollversuche wurde vollkommen sichergestellt, daß das Nickeloxydul nicht Harnstoff spaltet und in keiner Weise die quantitative Destillation des aus Harnstoff gebildeten Ammoniaks stört.

Fügt man zum Nickeloxydulpulver Cyankalium, so wird bei genügender Cyankaliummenge die Nickelwirkung aufgehoben.

Versuch.

1. Urease, 0,2 Nickeloxydul + 2 ccm Cyankalium (1 %) = 37,2 und 38,5 ccm.

2. Urease, 0,2 Nickeloxydul + 2 ccm Wasser = 4,0 und 4,2 ccm.

Ist die Cyankaliummenge zu gering, so tritt keine Reaktivierung ein.

Versuch.

1. Urease, 0,2 Nickeloxydul + 1 ccm Cyankalium (1 ‰) = 3,0 und 3,9 ccm.

2. Urease, 0,2 Nickeloxydul + 1 ccm Wasser = 4,0 und 5,0 ccm.

3. Urease + 1 ccm Cyankalium (1 ‰) = 55,9 und 56,7 ccm.

4. Urease + 1 ccm Wasser = 49,0 und 50,5 ccm.

Wir haben uns dann in einer Reihe von Versuchen davon überzeugt, daß man das Cyankalium auch noch nach einer Stunde, ja sogar noch nach 24 Stunden zufügen und immer noch die Wirkung quantitativ reaktivieren kann. Ferment wird also nicht zerstört. Es ist aber überflüssig, diese Versuche besonders zu schildern. Denn die Versuche, die wir nunmehr beschreiben werden, zeigen auch dasselbe, aber eben noch mehr.

Versuch.

Es werden gemischt:

1. 25 ccm Ureaselösung (0,3 %), 0,5 g Nickeloxydul, 0,5 ccm Toluol.

2. 25 ccm Ureaselösung, 0,5 ccm Toluol.

Beide Gemische verbleiben über Nacht in einem Zentrifugenglas im Eisschrank, werden dann zentrifugiert und filtriert.

Von der Lösung 1 werden 10 ccm mit 2 ccm Cyankalium (1 ‰) versetzt = 95,9,

10 ccm mit 2 ccm Wasser versetzt = 4,4.

Von der Lösung 2 ebenfalls 10 ccm mit 2 ccm Cyankalium (1 ‰) = 99,9 ccm,

10 ccm mit 2 ccm Wasser = 96,0 ccm.

Die hohen Werte sind dadurch bedingt, daß die Proben 48 Stunden im Brutschrank blieben.

Versuch.

Wiederholung der vorigen Versuche.

Lösung 1	mit 2 ccm Cyankalium	69,7 ccm
	„ 2 ccm Wasser	4,0 ccm
Lösung 2	mit 2 ccm Cyankalium	69,9 ccm

Versuch.

Lösung 1	mit 2 ccm Cyankalium	52,7 ccm
	„ 2 ccm Wasser	3,5 ccm
Lösung 2	mit 2 ccm Cyankalium	53,4 ccm
	„ 2 ccm Wasser	47,7 ccm

Versuch.

Lösung 1	mit 0,1 ccm Cyankalium (1 ‰)	4,9 ccm Wasser 6,4 ccm
	mit 0,5 ccm Cyankalium (1 ‰)	4,5 ccm Wasser 59,9 ccm
	mit 5 ccm Wasser	5,0 ccm
Lösung 2	mit 5 ccm Wasser	54,9 ccm

Dieser Versuch gibt also einen quantitativen Anhalt über die notwendige Cyankaliummenge, indem 0,1 mg nicht, wohl aber 0,5 mg zur Reaktivierung genügten.

Es ist also sichergestellt, daß die minimalen Nickeloxydulmengen, die in Lösung gehen, genügen, um das Ferment un-

wirksam zu machen. Es ist dabei nicht ausgeschlossen, daß auch diese Menge nicht einmal im Wasser sich löst, sondern durch Ferment fixiert und daher in der Lösung festgehalten wird. Fest steht weiterhin, daß noch nach mindestens 24 Stunden das Ferment reaktivierbar ist. Besonders interessant scheint es mir, daß das inaktive Ferment als solches filtrierbar ist. Wir müssen wohl annehmen, daß wir in der Tat eine inaktive Nickelverbindung der Urease vor uns haben. Über die Menge des Nickels, die so durch das Ferment gebunden ist, erhalten wir eine quantitative Vorstellung, indem wir sehen, wieviel Cyankalium wir zur Reaktivierung brauchen.

Die Darlegungen sind also durchaus schlüssig und beweisen, daß die Urease sich in eine inaktive lösliche Nickelverbindung überführen läßt, die in die aktive Form durch Entziehung des Nickels mit Hilfe von Cyankalium zurückverwandelt werden kann. Trotzdem schien es mir bei der Wichtigkeit der Frage erwünscht, noch mit anderen Versuchen die Richtigkeit des gewonnenen Standpunktes zu prüfen. Bekanntlich habe ich früher mit Umeda[1]) gefunden, daß Aminosäuren, insbesondere auch das Glykokoll, in sehr erheblichem Grade die Wirkung der Urease verstärkt. Das Wesen dieser Auxowirkung ist noch nicht geklärt. Es sei nur daran erinnert, dass nach den Versuchen Ronas daran zu denken war, daß vielleicht die Pufferwirkungen der Aminosäuren in Frage kommen. Eine restlose Deutung war aber auch so nicht zu gewinnen. Wie dem auch sei, jedenfalls war folgende Überlegung berechtigt: Wir gehen von der auf Grund unserer bisherigen Versuche formulierten Hypothese aus, daß die Urease inaktive Verbindungen mit Sublimat und mit Nickel bildet, deren Aktivierung dadurch gelingt, daß der Verbindung durch Cyankalium das Sublimat oder das Nickel entzogen wird. Ist diese Hypothese berechtigt, so muß es möglich sein, die inaktive Nickelverbindung mit Leichtigkeit durch Glykokoll zu reaktivieren, während das bei der Sublimatverbindung nicht gehen dürfte. Denn eine komplexe Nickel-Glykokollverbindung entsteht leicht, die entsprechende Sublimat-Glykokollverbindung aber nicht.

Die Versuche fielen durchaus in diesem Sinne aus und

---

[1]) Diese Zeitschr. 69.

lieferten uns also außer den neu festgestellten Tatsachen eine Stütze unserer Theorie der inaktiven Fermentverbindungen.

Versuch.

Es wird gemischt:

1. 10 ccm Urease (0,3 %), 2 ccm Sublimat (1:50000), 5 ccm Glykokoll (5 %).

2. 10 ccm Urease (0,3 %), 2 ccm Wasser, 5 ccm Glykokoll (5 %).

Nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff (2 %), 48 Stunden Brutschrank.

Es wird erhalten:

1. 0,8 und 0,9 ccm
2. 123,3 und 124,0 ccm

Versuch.

Es wird gemischt:

1. 10 ccm Urease (0,3 %), 0,2 g Nickeloxydul, 5 ccm Glykokoll (5 %).

2. 10 ccm Urease (0,3 %), 5 ccm Glykokoll (5 %).

Nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff (2 %).

Es wird erhalten;

1. 72,0 ccm
2. 81,5 ccm

Versuch.

In zwei Zentrifugengläser werden gebracht je 25 ccm Urease (0,3 %), 0,5 Nickeloxydul, 0,5 ccm Toluol. Die Gläser bleiben 24 Stunden im Eisschrank, werden dann zentrifugiert, die Abgüsse durch Filtrieren vereinigt.

Es werden angesetzt je 10 ccm des Filtrats mit

1. Glykokoll (5 %) 0,1 ccm = 1 mg, 0,9 ccm Wasser
2. „ (5 %) 0,5 ccm = 5 mg, 0,5 ccm „
3. „ (5 %) 1 ccm = 10 mg
4. kein Glykokoll 1,0 ccm „

Nach 5 Minuten 20 ccm Harnstoff (2 %), 48 Stunden Brutschrank.

Es wird erhalten:

1. 19,0 ccm
2. 45,4 ccm
3. 65,0 ccm
4. 2,6 ccm

Versuch.

In einem entsprechenden Versuch wurde erhalten:

1. mit 5 ccm Glykokoll (5 %) = 50 mg 72,4 ccm
2. " 5 ccm Wasser 5,0 ccm
3. bei der Kontroll-Urease, ohne Nickelbehandlung mit 5 ccm Glykokoll (5 %) = 50 mg 74,7 ccm
4. bei der Kontroll-Urease ohne Nickelbehandlung mit 5 ccm Wasser 54,9 ccm

Wir sehen also, daß die Sublimaturease durch Glykokoll nicht im geringsten reaktiviert wird. Dagegen ist die Nickelurease durch Glykokoll reaktivierbar. Mit zunehmender Glykokollmenge steigt die Wirksamkeit, weil immer mehr Ferment aktiv wird. Wie nach meinen früheren Beobachtungen zu erwarten war, steigt aber der Wert der Nickelurease mit großen Glykokolldosen über den Wert der Kontrolle ohne Glykokollzusatz, weil eben bei den hohen Dosen noch die 2. Glykokollwirkung, die nichts mit der Entnickelung der Urease zu tun hat, in Tätigkeit tritt.

VII. Ergänzungsversuche.

Auch die Wirkung des Quecksilberbercyanids auf die Soja-Urease kann durch Cyankalium aufgehalten werden. Das ist nicht verwunderlich, da auch das Cyanid noch Komplexverbindungen sowohl mit dem Ferment wie mit dem Cyankalium wohl noch eingehen kann.

Versuch.

Es wird gemischt 10 ccm Urease (0,3 %), 0,1 ccm Quecksilbercyanid (1 : 5000) = 0,02 mg mit

1. 0,1 ccm Cyankalium (1 %) = 1 mg
2. 0,1 ccm Wasser

Nach 5 Minuten wird allen Proben 20 ccm Harnstoff (2 %) zugefügt. Nach 48 Stunden Brutschrankaufenthalt wird erhalten

1. 30,95 und 31,8 ccm
2. 5,0 und 5,3 ccm

Die Harnstoffspaltung durch Bakterien wurde erst durch verhältnismäßig große Quecksilbercyaniddosen gehemmt. Die Hemmung von 1 ccm Kultur erfolgte durch 1 mg, während 0,02 mg noch gar nicht hemmte.

Als Ergänzung unserer Versuche über den Parallelismus von Fermenthemmung und Entwicklungshemmung der Bakterien seien auch noch einige Versuche über die Einwirkung von Nickel auf Bakterien angefügt.

0,1 g Nickeloxydul hatte nur abschwächende Wirkung; 0,2 g hob die Wirkung von 1 ccm Kultur auf.

In einem Versuche wurde je 0,2 g Nickeloxydul mit 0,5 ccm Kultur und 20 ccm Harnstofflösung zusammengebracht. Die eine Probe wurde nach 24 Stunden verarbeitet. Es wurde erhalten 2,3 ccm. Von der andern Probe wurde auf neue Bouillon abgeimpft. Nach zwei Tagen wurde je 1 ccm Bouillon zum Versuch genommen. Es wurden erhalten 75,1 und 75,5 ccm.

Der Versuch zeigt also, daß die Fermenthemmung ohne Abtötung der Bakterien stattfindet. Nach Analogie der Sublimat- und Cyankaliumversuche ist anzunehmen, daß eine Entwicklungshemmung vorhanden ist.

Fräulein Gertrud Kossack, Assistentin des Laboratoriums, danke ich bestens für ihre wertvolle Mitarbeit bei den Analysen.

Zusammenfassung.

A. Experimentelle Ergebnisse.

1. Das Ureaseferment wird schon durch minimalste Sublimatmengen unwirksam, eine Steigerung findet auch durch allerkleinste Giftmengen nicht statt.

2. Die durch Sublimat unwirksam gemachte Urease kann auch nach geraumer Zeit noch durch Cyankalium reaktiviert werden.

3. Erst gewaltige Cyankaliummengen vermindern — und zwar wohl nur in unspezifischer Weise — die Wirksamkeit der Urease, mittlere Mengen üben eine zwar nicht sehr erhebliche, aber doch unverkennbare Verstärkungswirkung aus.

4. Das in Wasser unlösliche Nickeloxydul inaktiviert die in Lösung befindliche Urease. Das inaktive Ferment kann nach der vollständigen Trennung von ungelöstem Nickeloxydulpulver durch Cyankalium vollständig reaktiviert werden.

5. Die durch Sublimat inaktivierte Urease bleibt auch bei Zufügung von Glykokoll unwirksam, während die durch Nickeloxydul inaktivierte Urease schon durch sehr kleine Glykokollmengen wieder aktiv wird. Diese Glykokollmengen sind bedeutend kleiner als die, welche bei dem aktiven Ferment die früher beschriebene Auxowirkung entfalten.

6. Auch die durch Quecksilbercyanid inaktivierte Urease kann durch Cyankalium reaktiviert werden.

7. Die Harnstoffspaltung durch Bakterien wird ebenso wie durch Sublimat auch durch Cyankalium, das auf die Urease in nicht ganz gewaltigen Dosen nicht einwirkt, inaktiviert. Eine Steigerung durch kleinste Dosen war weder beim Sublimat noch beim Cyankalium erkennbar.

8. Die durch Sublimat inaktivierten Bakterien werden durch Cyankalium nicht reaktiviert.

9. Die Dosen Sublimat, Cyankalium und Nickeloxydul, welche die Harnstoffspaltung der Bakterien inaktivieren, bewirken keine Abtötung der Bakterien.

10. Die harnstoffspaltenden Bakterien spalten nicht Methylharnstoff, Thioharnstoff und Acetamid.

B. Schlüsse, Deutungen, Zusammenhänge.

Nach den vorliegenden Versuchen erscheint der Schluß berechtigt, daß die Fermente durch Sublimat oder Nickeloxydul in der Art inaktiviert werden, daß sie Komplexverbindungen mit diesen Substanzen bilden. Ihre Reaktivierung durch Cyankalium würde erfolgen, weil dessen Affinität zu den Giften eine stärkere ist und sie daher den Fermenten wieder entreißt. Insbesondere die Nickelversuche kann man ohne Zwang so deuten, daß es uns gelungen ist, lösliche inaktive Fermentverbindungen herzustellen, deren Reaktivierung durch Entziehung des Nickels noch nach längerer Zeit quantitativ gelingt. Vorläufig handelt es sich natürlich noch um vereinzelte Reaktionen. Aber es ist doch berechtigt zu sagen, daß wir hier auf dem Wege sind, Aufschluß über die chemische Konstitution der

wirksamen Fermentgruppen zu erhalten. Ein derartiger Aufschluß kann ja nur durch Reaktionen erreicht werden, die direkt an die Fermentwirksamkeit angreifen. Denn eine noch so weitgehende Erforschung der allgemeinen Ferment-Konstitution, selbst wenn sie möglich würde, könnte nichts darüber aussagen, welche Konstitution die Grundlage der Fermentwirkung ist.

Wir weisen dann nochmals ausdrücklich auf die verstärkende Wirkung bestimmter Cyankaliummengen auf die Ureasewirkung hin. Es handelt sich hier um keine mächtige Beeinflussung, aber doch um ein sicher vorhandenes Phänomen. Es wäre denkbar, daß Cy-Gruppen im Ferment eine Funktion besitzen. Gerade bei der Urease könnte man sehr wohl sich vorstellen, daß zwischen dem Stickstoff der Cy-Gruppen und den Stickstoffatomen des Harnstoffes Valenzen in Beziehung treten. Es ist denkbar, daß die Urease wirkt, indem sie mit dem Harnstoff zunächst eine Komplexverbindung eingeht, die dann unter Freiwerden von Ammoniak zerfällt.

Biologisch wichtig erscheint es uns, daß man nach den Ergebnissen unserer Versuche zwei Typen von Giftwirkungen bei Organismen unterscheiden muß, die eigentlichen Fermentgifte und die Gifte, welche die Fermentbildung verhindern. Ein entscheidendes Moment der Entwicklungshemmung der Bakterien sehen wir in der Hemmung ihrer Fermentbildung.

Chemische Blutuntersuchungen an den Teilnehmern eines Armee-Gepäckmarsches.

Teil II.

Reststickstoff und seine Komponenten, Blutzucker und Dichte.

Von

Joh. Feigl.

[Mitbearbeitet von A. V. Knack und H. Koopmann.]

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 25. Mai 1916.)

Einleitung.

In der ersten Mitteilung wurde über Umsatz von Blutfarbstoff berichtet und die spektroskopischen Befunde an Oxyhämoglobin und Hämatin im Serum zum chemischen und mikroskopischen Blutnachweis im Harn in Beziehung gesetzt[1]). Die Beurteilung der gewonnenen Gegenüberstellung lenkte die Aufmerksamkeit, was zunächst das Auftreten von Blut im Harn angeht, von Reizerscheinungen in der Niere ab und lehrte, daß wenigstens bei einem Teile der Wettgeher primär Umsetzungen in der Blutbahn vor sich gegangen waren, die zur Freisetzung und sekundären Veränderung des Farbstoffes geführt hatten.

Die Fragestellungen des derzeitigen Untersuchungsprogrammes griffen indes, was chemische Methoden zur Prüfung von Blut und Serum anging, weiter aus.

Über diese ferneren Untersuchungen und ihre Ergebnisse soll nunmehr berichtet werden.

Wir finden als Konsequenz aus den zahlreichen und theoretisch durchdachten Untersuchungen von Albu den Begriff der „Sportniere“ in der Literatur an[2]).

---

[1]) J. Feigl, diese Zeitschr. 75, 1916.

[2]) A. Albu, Zeitschr. f. klin. Med. 78, 151, 1913.

Auf Vorgänge in der Niere wies die Gesamtheit der chemischen und mikroskopischen Harnbefunde der stattlichen Reihe älterer Arbeiten hin; auf vorübergehende Reizungen, Ausschwemmungen, Veränderungen, selbst ausgesprochene Schädigungen müssen die Ergebnisse der Untersuchungen von Albu bis Thiele bezogen werden[1]).

Die durch unsere Arbeiten gewonnenen Anhaltspunkte passen sich qualitativ und der Richtung nach denen der früheren Untersucher und Beobachter an. Ihre vollständige Beschreibung und Diskussion unter Einschluß der zahlenmäßigen und tabellarischen Darstellung von Urinuntersuchungen üblicher, den bisherigen Publikationen entsprechender Ausführung, erfolgt in Gemeinschaft mit Querner, weshalb auf diese hier nur hingewiesen sei[2]). Während wir das Auftreten qualitativ gleichartiger Erscheinungen aus unseren klinischen und physiologisch-chemischen Ergebnissen herleiten konnten, hat sich in quantitativer Hinsicht sowohl nach dem Umfange wie nach dem Grade ein von den älteren Arbeiten in mancher Beziehung abweichendes Bild ergeben. Wir sprachen uns in dem Sinne aus, daß das Wesentliche der durch sportliche Anstrengung bzw. Überanstrengung auf der Basis beschleunigter Märsche und Gehübungen unter Belastung mit Gepäck, Waffen, Koppel und Tragteilen hervorgerufenen Erscheinungen generell sei. Ebenso lehnten wir aber eine zu schematische Auffassung und Deutung hinsichtlich der Schwere und des Umfangs der zur Beobachtung kommenden Befunde ab, weil die äußeren Umstände (Wetter, Wind, Weg; Zahl, Alter, Training der Teilnehmer) sehr stark modifizierend wirken. Wie dem auch sei, bisher steht die wohl begründete Auffassung von Albu im Vordergrunde, nach der die Summe der erhobenen Befunde als Ausdruck von Stauungsvorgängen in der Niere aufgefaßt wird. Im Sinne dieser Lehre haben wir neben anderen Fragestellungen auch die nach dem Verhalten des Reststickstoffs im Blute in Angriff genommen. Da wir aus älteren Publikationen ferner Anhaltspunkte für Umlagerungen im Wasserhaushalte mit offensichtlichen bzw. möglichen Ände-

[1]) J. Feigl und E. Querner, Zeitschr. f. klin. Med. **1916**.

[2]) Literaturübersicht siehe J. Feigl, Ärztl. Verein z. Hamburg, 1916, 25. Januar; Deutsche med. Wochenschr. **1916**, 617, Nr. 20, 18. Mai.

rungen im Bestand der Elemente des Blutes bereits kennen, solche aus dem Überblick der mit dieser Frage methodisch nicht direkt beschäftigten weiteren Arbeiten ableiteten und zur Beurteilung der Konzentrationsverhältnisse der ermittelten Werte für Zucker, Gesamtstickstoff wie Harnstoff benötigten, haben wir auch Dichtebestimmungen ausgeführt.

Methoden.

Für die Auswahl der Methoden kamen die seinerzeit geeignetsten, d. h. solche, die sich dem Begriff der Mikrochemie tunlichst näherten, in Frage. Das inzwischen von Bang ganz vor kurzem publizierte Verfahren zur Mikrobestimmung der wesentlichsten Blutbestandteile existierte damals als ganzes noch nicht. Die Bestimmung des Blutzuckers war zwar schon in Hinsicht auf das Tropfenverfahren quantitativ durchgebildet[1]). Dieses war auch schon im Gebrauche, und es lagen bereits Erfahrungen vor[2]). Für Reststickstoff und Harnstoff existierte das heutige Verfahren indes noch nicht, wohl aber eine später von Kochmann modifizierte Mikro-Kjeldahlmethode von Bang und Larsson[3]). An Entnahmen hierfür, wie auch zu der in der ersten Mitteilung beschriebenen Spektroskopie war eine Venenpunktion an sich nötig, so daß wenigstens in einer Reihe von Fällen genügend Blut gewinnbar sein mußte. Damit war das Tropfenverfahren, das, wie gesagt, für die Analyse des Zuckers verfügbar gewesen wäre, ohnehin entbehrlich, bzw. leider nicht anwendbar. Wir müssen indes der Meinung von Bang beipflichten, der von einer echten Mikromethode die Umgehung der Venenpunktion zugunsten der tropfenweisen Stichentnahme voraussetzt[4]).

Wir benutzten zur Ermittelung des Reststickstoffs die Methode von Folin, deren Haupteigentümlichkeit die Fällung des ungerinnbar gemachten Blutes mit der 10fachen Menge Methylalkohol unter nachheriger Vervollständigung des Vorganges durch

---

[1]) J. Bang, Der Blutzucker. Bergmann, Wiesbaden 1913. Münch. med. Wochenschr. **1913**, 2277.

[2]) Physiol.-chem. Univ.-Inst., Frankfurt a. M.; sowie Chem. Labor. des Krankenh. Hamburg-Eppendorf u. a. a. O.

[3]) J. Bang und K. O. Larsson, diese Zeitschr. **51**, 193, 1913.

[4]) J. Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile unter „Reststickstoff". S. 29. Bergmann, Wiesbaden 1916.

Zusatz von Zinkchlorid in gesättigter alkoholischer Lösung ist. Die Ausführung geschah in genauer Anlehnung an die Originalpublikationen des Autors und seine Zusammenfassung der einschlägigen Verfahren im Handbuche der biochemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden[1]). Die Aufarbeitung der Reststickstofffraktion erfolgte durch Verbrennung nach Kjeldahl-Gunning, die Isolierung des gebildeten Ammoniaks durch Übertreiben bei gewöhnlicher Temperatur, die Bestimmung colorimetrisch mit Neßlerschem Reagens[2]).

Da mit der Entwicklung der Theorie auch die Methodik des Reststickstoffs inzwischen weiterer Vervollkommnung zugänglich gemacht wurde, können wir besonders angesichts dreijähriger eigener Studien an diesem Punkte einer Kritik des Verfahrens und seiner Ergebnisse nicht aus dem Wege gehen, um so mehr, als wir des Standpunktes fremder wie auch eigener späterer Nachuntersuchungen eingedenk sein müssen[3]). Das damals gewählte Verfahren trifft der prinzipielle Einwand gegen rein chemische Isolierungen der „Nichteiweißfraktion". Bei solchen erscheint es zunächst kaum möglich, ein einziges chemisches Fällungsmittel zu wählen, das den nach absoluter und relativer Menge schwankenden Komponenten des Reststickstoffs allgemein gerecht würde. Erst Kombinationen bzw. die Aufeinanderfolge mehrerer Fällungsmittel bei Einhaltung bestimmter Reaktionsverhältnisse bieten bessere Aussichten[4]). Man wird auch so immer nur eine optimale Wirkung erzielen können, wofern nicht der physikalisch-chemischen bzw. kolloid-chemischen Adsorptionsfällung der Vorzug eingeräumt wird. Gegen den Methylalkohol, der, vielleicht noch ungünstiger, durch Äthylalkohol von Wolf[5]) in dessen Methode ersetzt wurde, sind Über-

---

[1]) O. Folin, Journ. of Biolog. Chem. **11**, 529, 1912. — Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **7**, 722 ff.

[2]) Ausführung modifiziert nach J. Greenwald; vgl. dazu auch Bock-Benedict, Journ. of Biolog. Chem. **20**, 48, 1914.

[3]) Gemeinsam mit A. V. Knack; siehe J. Feigl, Zum gegenwärtigen Stande der chemischen Blutuntersuchung, Ärztl. Verein zu Hamburg 1916, 2. Mai; Hamb. Ärzte-Korresp. 1916, Nr. 20, S. 223; bzw. Knack, ebenda, Nr. 22; Münch. med. Wochenschr. **1916**.

[4]) J. Bang, Mikrobestimmungen, 1916, S. 32 ff.

[5]) Wolf, Journ. of Physiol. **49**, 89, 1914; Chem. Centralbl. **17**, 915, 1915.

legungen am Platze wegen der Unterfraktion der Aminosäuren, der Harnsäure; die Verwendung des Zinkchlorids verstärkt diese Bedenken; es benachteiligt besonders noch das Kreatinin.

Greenwald hat sich gegen die Verwendung alkoholischer Lösungen erklärt mit Rücksicht auf den zu erstrebenden Ausschluß des Lipoidstickstoffs, den er zu 2,5 bis 2,7 mg pro 100 ccm Vollblut angibt, und den er unter Umgehung obiger Fehlerquellen der Alkoholmethode durch wässerige Trichloressigsäure als Fällungsmittel in den Niederschlag bringt[1]).

Die mit diesem von Graves und Kober bei weiterem (nephelometrischen) Ausbau günstig beurteilten Fällungsmittel erzielten Werte stellen sich etwas höher als die von Folin gefundenen[2])[3]). Auch darf nicht unerwähnt bleiben, daß nach einer Darlegung von Bang die absolute Entfernung letzter Spuren der Eiweißfraktion, die Folin selbst für nicht durchaus sichergestellt erachtet, bei dem Alkohol-Zinkchloridverfahren nicht unbedingt zu gelingen braucht[4]). Wir haben, wie bei anderen Methoden der Reststickstoffbestimmung, so auch hier den Eindruck, daß — allerdings im kleinsten Ausmaße — eine gegenseitige Aufhebung von Fehlerquellen und Fehlern eintreten kann. Wie sehr diese gegenseitigen Beeinflussungen bei wechselnden Verhältnissen unter den Komponenten sich verschieben können, haben wir an reinen Lösungen und Gemischen nachgewiesen, worüber demnächst zu berichten sein wird. Auch für bloße Vergleichszwecke muß äußerst kritisch verfahren werden. Es ist z. B. nach eingehenden Versuchen an Eiweiß-, Albumin-, Globulinlösungen, an abgestuften Serumverdünnungen und passenden Gemischen mit reinen Krystalloiden bei sorgfältiger Ausführung verschiedener Modifikationen des Kochenteiweißungsverfahrens keineswegs sichergestellt, daß identische Versuche gleiche oder mit geringgradigen, praktisch unbeträchtlichen Abweichungen behaftete Werte ergeben. Für je 12 Ver-

[1]) J. Greenwald, Journ. of Biolog. Chem. **21**, 67, 1915; Chem. Centralbl. **18**, 724, 1915.

[2]) S. S. Graves und P. A. Kober, Journ. Amer. Chem. Soc. **37**, 2430, 1915; Chem. Centralbl. **1916**, 235.

[3]) 21,0 bzw. 35,0 bzw. 120,0 mg RN für 100 ccm Vollblut nach O. Folin entsprechen 27,0 bzw. 50,0 bzw. 137,0 mg RN nach J. Greenwald.

[4]) cf. Bang, Mikrobestimmungen, 1916, S. 29.

suche konnten wir, wie hier vorläufig zu bemerken ist, Differenzen bis hinauf zu 50% beobachten, solche von 33% waren nicht selten. Dies scheint uns, vorläufig angedeutet, auch im vorliegenden Falle von Interesse, weil hier und da „zu Vergleichszwecken“ bei durchaus nicht sehr engherziger Benutzung der erzielten Werte Kochenteiweißung als Versuchsmethodik selbst verwickelterer Fragen benutzt werden[1]).

Bei der von uns gewählten Methodik von Folin stimmen nun die absoluten Werte immerhin gut mit den besten der umfangreichen Literatur zusammen. Gegen eine Benutzung dieser zu vergleichenden Untersuchungen sind Einwände demnach nicht wohl zu erheben, da auch Bang ihnen den Vorrang der allein stichhaltigen in der bisherigen Literatur einräumt. Für die Diskussion haben wir nur Zahlen herangezogen, die 20% Steigerung gegen den Grundwert bei Antritt des Marsches darstellen und glauben, dieses mit den an sich gegebenen Fehlergrenzen der Methode in Einklang bringen zu können.

Die Aufteilung des Gesamtreststickstoffs berücksichtigt vorwiegend den Harnstoffanteil, der in Beziehung zu der komplexen Größe Rückschlüsse auf die Natur des Retentionsvorganges zuläßt. Folin und seine Mitarbeiter haben auch Kreatin, Kreatinin, Ammoniak und Harnsäure bestimmt[2]). Bang hat die Begriffe „Harnstofffraktion“ (Harnstoff, Ammoniak) bzw. „Aminosäurefraktion“ (Aminosäuren, Kreatin, Kreatinin, Purin) geschaffen. Die allgemeine Anwendung dieser dürfte sich namentlich auch für klinische Verhältnisse als praktisch erweisen. Seinerzeit existierte nur die qualitative Ninhydrinreaktion von Abderhalden und Lampé[3]), die seither von Harding und Mac Lean quantitativ ausgebaut wurde[4]). Kreatinin konnte im Blut nach Folin bestimmt werden[5]), Harnstoff gleichfalls nach einer Methode von Folin, die auch nach einer Kritik von Bang als gut anzusehen ist[6]). Wir haben sie auch sonst

[1]) H. Zondek, Zeitschr. f. klin. Med. 82, 78, 1915.

[2]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. 17, 487, 1914.

[3]) E. Abderhalden und A. Lampé, Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, 132, 1913.

[4]) V. Harding und R. Mac Lean, Journ. of Biolog. Chem. 20, 1915; Chem. Centralbl. 11, 630, 1915.

[5]) O. Folin, Journ. of Biolog. Chem. 17, 475, 1914.

[6]) J. Bang, Mikrobestimmungen, 1916, S. 38.

sehr oft mit gutem Erfolge benutzt. Inwieweit **Bangs** Bedenken gegen die Colorimetrie des durch Luftstrom übergetriebenen Ammoniaks zutreffen, haben wir damals nicht geprüft.

Die Bestimmung des **Blutzuckers** haben wir unter den oben gegebenen Voraussetzungen makrochemisch nach der von **Schumm** und **Hegler** angegebenen modifizierten Hydroxylamintitration **Bangs** durchgeführt. Diese Autoren bedienen sich zur Enteiweißung der kolloiden Eisenlösung nach **Rona** und **Michaelis**[1]). Auch dieser im übrigen eleganten Methode haftet die Eigentümlichkeit der „Restreduktion" an, über die von **Schumm** jüngst zufolge der Arbeiten von **Griesbach** und **Straßner** näher gearbeitet worden ist[2])[3]). **P. Mayer** hat den Gedanken ausgesprochen, daß diese Restreduktion zum Teile mit aus den von der Hefe abgeleiteten Stoffen hervorgehe[4]). Wir geben der durch zahlreiche spezielle Versuche begründeten Auffassung Raum, daß diese Fehlerquelle auch mit dem komplexen Reststickstoff, speziell mit dem Umfang der Aminosäurefraktion und der Natur der darin enthaltenen Bestandteile Schwankungen unterworfen ist. An einem großen Material geeigneter Fälle, besonders an Nephritiden, haben wir Blutzuckeruntersuchungen angestellt, da eine Übereinstimmung der Ansichten aus den jüngsten Arbeiten und Zusammenstellungen zu dieser Frage nicht hervorgeht[5]). Wir haben uns dann aus der Beziehung der Gesamtreduktion zu dem Gesamt-Reststickstoff und seinen Komponenten — Aminosäuren bzw. Kreatin, Kreatinin und Purin — die Meinung gebildet, daß die Bestimmung des Blutzuckers unter gewissen Voraussetzungen jedenfalls ohne kritische Berücksichtigung der Werte für die genannten Verbindungen nicht gedeutet werden kann. Wenigstens gilt dies für Fälle, die bei speziellen Anlässen von der Norm nach der Richtung der Anreicherung von Kreatin, Kreatinin, Harnsäure, Amino-

---

[1]) O. **Schumm** und C. **Hegler**, Jahrbücher d. Hamburger Krankenanstalten **12**, 429, 1911; **18**, 187, 1913. Biolog. Abtlg. des Ärztl. Vereins zu Hamburg, 1911, 2. Nov.

[2]) W. **Griesbach** und H. **Straßner**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **88**, 199, 1913.

[3]) O. **Schumm**, Zeitschr. f. physiol. Chem. **96**, 204, 1915.

[4]) P. **Mayer**, diese Zeitschr. **50**, 362, 1913.

[5]) J. **Feigl** und A. V. **Knack**, Untersuchungen 1914 bis 1916, noch unveröffentlicht; referiert im Ärztl. Verein zu Hamburg 1916, 2. Mai.

säuren im Blute abweichen. Diese inzwischen gewonnene Einsicht sei als Beitrag zur Beurteilung der Blutzuckerwerte beigefügt.

Die Bestimmung der Dichte erfolgte nach Hammerschlag[1]).

Tabelle I.

Befunde der chemischen Blutuntersuchung.

Laufende Nummer	Start-Nummer	Gruppe M. = Militär Z. = Zivil	Nichteiweißstickstoff, Reststickstoff nach Folin mg in 100 ccm Blut		Gesamtreduktion, Blutzucker nach Bang %		Dichte nach Hammerschlag		Bemerkungen
			vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher	
			I. Parallel untersucht.						
1	2	M.	28,4	31,6			1053	1060	0
2	6	"	25,2	28,6					0
3	24	Z.	31,6	34,6					O_2 Hb.
4	30	M.	32,7	37,1	0,10	0,10	1060	1062	O_2 Hb. — Ht.
5	33	"	33,2	34,8					O_2 Hb. — Ht.
6	35	"	36,2	39,2					O_2 Hb.
7	45	"	37,0	41,2	0,09	0,10	1057	1063	0
8	52	"	24,6	27,2	0,09	0,11	1056	1062	O_2 Hb. — Ht.
9	4	Z.	22,2	59,8	0,11	0,10	1058	1062	0
10	12	"	25,7	38,2					O_2 Hb.[2])
11	19	"	26,2	48,2					O_2 Hb. — Ht.
12	22	"	29,4	44,4					O_2 Hb.
13	24	M.	22,2	45,6					0[3])
14	36	"	28,4	39,0	0,10	0,11	1055	1060	Ht.[4])
15	37	"	29,2	37,6					O_2 Hb.[5])
16	49	"	27,2	36,1					O_2 Hb.
17	51	"	29,2	67,2					Ht.[6])
18	59	"	27,8	36,2					0[7])
19	68	Z.	27,1	43,8					O_2 Hb. — Ht.
20	137	M.	22,6	37,2	0,09	0,10	1054	1061	0
			II. Nur nach dem Marsche untersucht.						
21	77	Z.		32,6					0
22	100	"		26,2					0
23	56	M.		47,2					O_2 Hb. — Ht.
24	71	Z.		48,8					0
25	109	"		58,8				1063	Hb.[8])
26	118	M.		57,6					0

[1]) Lenhartz-Meyer, Mikroskopie usw. 7. Aufl. Springer, Berlin 1913.

[2]) 26. Mann am Ziel.

[3]) 24. Mann am Ziel.

[4]) Bereits vor dem Marsche in eben nachweisbarer Menge vorhanden; hernach reichlich vorhanden.

[5]) 17. Mann am Ziel.

[6]) Hat bei 25 km aufgegeben.

[7]) 22. Mann am Ziel.

[8]) 3. Preisträger.

Tabellen und Befunde.

Die gesamten Befunde sind in Tabelle I S. 304 vereinigt. Der Reststickstoff ist dort nur als komplexe Größe angegeben, spektroskopische Serumbefunde sind beigefügt.

In Tabelle II findet sich die Aufteilung der komplexen Reststickstofffraktion dargestellt für 6 vor Antritt bzw. nach Beendigung des Marsches parallel untersuchte Fälle. Unter $\overset{+}{\text{Ür}}$ ist Harnstoff in absoluten Werten angegeben; die Aminosäuren sind nach Bang durch Differenzberechnung als Aminosäurefraktion dargestellt; die letzte Rubrik enthält, prozentisch berechnet, den Harnstoffanteil.

Tabelle II.

Laufende Nr.	Aufteilung der Reststickstoffreaktion vor Antritt des Marsches				Aufteilung der Reststickstoffreaktion nach Beendigung des Marsches			
	R.-N	$\overset{+}{\text{Ür}}$	Aminosäuren	$\overset{+}{\text{Ür}}$ des R.-N %	R.-N	$\overset{+}{\text{Ür}}$	Aminosäuren	$\overset{+}{\text{Ür}}$ des R.-N. %
				Reihe I.				
9	22,2	11,0	11,2	50	59,8	50,0	9,8	84
17	29,2	15,0	14,2	53	67,2	58,0	9,2	86
19	27,1	14,0	13,1	52	43,8	38,6	5,2	88
				Reihe II.				
2	25,2	12,0	13,2	45	28,6	22,0	6,6	77
5	33,2	18,0	15,2	54	34,8	26,0	8,8	74
8	24,6	11,5	13,1	47	27,2	22,0	5,2	80

Aus den Tabellen geht zunächst hervor, daß von 28 parallel vor Antritt bzw. nach Beendigung des Marsches untersuchten Teilnehmern 8, d. i. 30%, keinen, 20 Teilnehmer, d. i. 70% der Gesamtzahl, einen Anstieg zeigten, der die erwähnte angenommene Grenze der Erhöhung um $^1/_5$ gegen den Grundwert erreichte bzw. überschritt. Von den nur nach dem Marsche erhobenen Befunden — insgesamt 6 — zeigten 2 keine, 4 eine Erhöhung. Das Zahlenverhältnis ist nach der Richtung des gesteigerten Anteils mithin etwa das gleiche.

Die absoluten Werte vor Antritt des Marsches schwanken zwischen 22,2 und 37,0, die weitaus größere Zahl liegt unterhalb 30,0 mg für 100 ccm Blut. Sie entsprechen mithin etwa den von Folin gefundenen und überschreiten auch den Be-

reich der jüngst von **Bang** angegebenen Zahlen: 20,0 bis 35,0 mg pro 100 ccm Vollblut, nicht[1]).

Es sei hier darauf hingewiesen, daß **Bang** sich mit einer eingehenden Kritik der Befunde **Folins** beschäftigt. Mit Recht sieht er — auch nach Ergebnissen von **Greenwald** und von uns trifft das zu — die von **Folin** postulierten Variationsbreiten als zu eng und die obere Grenze als zu niedrig gesteckt an[2]). **Folin** hatte gefunden, daß 16 Personen von 20 bis 45 Jahren 22 bis 26 mg Gesamtreststickstoff zeigten, und daß er als Grenzwert 30 mg, höhere Zahlen bereits als pathologisch, ansehen müsse[3]). Nun fand aber auch **Folin** später noch höhere Normalwerte. Überdies haben **Greenwald** und **Bang** sowie wir gezeigt, daß die Variationsbreiten größere sind[4]).

Nach Beendigung des Marsches ermittelten wir als Minimalwert 28,6, als Maximalwert 67,2 mg in 100 ccm Vollblut. Drei Werte lagen über 50,0 mg, sieben noch über 40 mg. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Fehler der Methode bei guter Handhabung noch erheblich unter 10% bleibt. Nimmt man die Tatsache der Eindickung des Blutes hinzu, wie sie sich aus den Dichten ableiten läßt, so würde eine Erhöhung von 20% als Grundlage weiterer Schlüsse etwa das Richtige treffen, sicher aber zu weitgehenden Schlüssen vorbeugen. Dieser Anstieg verlangt naturgemäß eine relative Beurteilung der Werte. Zur Erleichterung der Übersicht sind in Tabelle I unter laufender Nr. 1 bis 8 die als nicht erhöht, unter 9 bis 20 die als gesteigert beurteilten Befunde der Paralleluntersuchungen, unter 21, 22 bzw. 23 bis 26 die nicht bzw. doch erhöhten Einzelwerte dargestellt.

Tabelle II zeigt die laufenden Nummern 9, 17, 19 mit den absoluten Werten für Gesamtreststickstoff, Harnstoff, Aminosäurenfraktion und den Harnstoffprozenten vor Antritt bzw.

---

[1]) J. **Bang**, diese Zeitschr. **72**, 104, 1916.

[2]) l. c. [1]), Seite 110.

[3]) O. **Folin**, Journ. of Biolog. Chem. **14**, 33, 1913.

[4]) J. **Greenwald**, Journ. of Biolog. Chem. 21, 67. — J. **Bang**, l. c. — J. **Feigl**, Zum gegenwärtigen Stande der chemischen Blutuntersuchung. Vortrag im ärztlichen Verein zu Hamburg 2. Mai 1916. Hamb. Ärzte-Korresp. **1916**, 14. Mai, S. 223; Offiz. Protokoll des Vereins in der Deutsch. med. Wochenschr. **1916**; s. dazu **Knack**, Diskussion. Hamb. Ärzte-Korresp. **1916**, 4. Juni, S. 250.

nach Beendigung des Marsches. Diese drei Fälle repräsentieren nachträglich gesteigerten Reststickstoff; Normalwerte an diesem zeigen die weiteren, ebenso detaillierten drei Fälle 2, 5, 8. Zur Kritik dieser Zahlen wäre zu sagen, daß, was zunächst den Harnstoffgehalt vor dem Marsche angeht, in Anklang an Folin und Bang Werte von 11 bis 15 mg vorkommen, die prozentischen Gehalten von 45 bis 53 entsprechen[1]). Aus Folins Zahlen geht bereits hervor, was Bang des näheren bespricht, daß diese Proportionalität in verhältnismäßig weiteren Grenzen schwanken kann. Er gibt das durchschnittliche Verhältnis zu 1 : 1,2 an[2]). Nach unseren anderweitigen Erfahrungen würden wir 45% bis 55% Harnstoff in den weitaus meisten Fällen bei Entnahme in nüchternem Zustande anzunehmen haben.

Nach dem Marsche bietet sich, zunächst in absoluten Zahlen, das folgende Bild: Der Nichteiweißstickstoff bei laufender Nr. 9, 17, 19 ist von 22,2 mg bzw. 29,2 mg bzw. 27,1 mg auf 59,8 mg bzw. 67,2 mg bzw. 45,8 mg beträchtlich gestiegen, unverhältnismäßig mehr jedoch der Harnstoffanteil auf 50,0 mg bzw. 58,0 mg bzw. 38,6 mg in 100 ccm Vollblut. Während das Absinken der Aminosäurefraktion für Nr. 9 bzw. 17 an sich gering ist, stellt es sich relativ in Beziehung zum Anstiege des gesamten Nichtproteinstickstoffes als beträchtlich dar. Es wird dies ersichtlich durch die prozentische Berechnung des Harnstoffanteils auf 84 bzw. 86 bzw. 88,1.

Ähnlich, jedoch nicht so ins Extreme gehend, stellen sich die Werte der Fälle 2, 5, 8 dar. Der absolute Betrag an Nichteiweißstickstoff ist nach dem Marsche unwesentlich höher. Seine Aufteilung verschiebt sich zugunsten der Harnstofffraktion von 45% bzw. 54% bzw. 47% auf 77% bzw. 74% bzw. 80%, bei einem absoluten Anstieg der Werte auf etwa das Doppelte: 12 auf 22,0 mg bzw. 15 auf 26,0 mg bzw. 11,5 auf 22,0 mg. In der ersten Gruppe war dieser absolute Anstieg der Harnstoffzahlen dreifach bis fünffach, von 11,0 auf 50,0 mg bzw. von 15,0 auf 58,0 mg bzw. von 14,0 auf 38,6 mg. Interessant fällt demnach auch eine Betrachtung der für die Aminosäurefraktion berechneten Werte aus. In der ersten Gruppe fielen sie

[1]) O. Folin, Journ. of Biolog. Chem. **11**, 520, 1912; **14**, 33, 1913.

[2]) J. Bang, Mikrobestimmung 1916, 38. — Derselbe, diese Zeitschr. 72, I, 109, 1916.

absolut von 11,2 auf 9,8 mg bzw. von 14,2 auf 9,2 mg bzw. von 13,0 auf 5,2 mg, in der zweiten von 13,2 auf 6,6 mg bzw. von 15,2 auf 8,8 mg und von 13,1 auf 5,2 mg. Relativ stellen sie sich dar im Reziprok der Harnstoffprozente. Statt mit 46% bis 55% beteiligt zu sein, sinken sie auf 26% bis 11,9%, zumeist unter 20% liegend.

Die Befunde der Blutzuckeruntersuchungen sind durch geringe Schwankungen ausgezeichnet. Offensichtlicher sind die Ausschläge der Dichtebestimmungen. Sie lassen durchweg den Schluß zu, daß Eindickungen vor sich gegangen waren.

Von den in der Tabelle nicht mit dargestellten Werten seien noch folgende genannt. In einem Falle, Nr. 19, wurden parallele, in einem zweiten, Nr. 5, eine weitere isolierte (nur nach dem Marsche) Kreatininbestimmung im Blut nach Folin aufgeführt.

Die Werte betrugen 1,2 mg bzw. 3,2 mg und 1,8 mg Kreatinin in 100 ccm Blut. Es ist also Kreatinin im ersten Beispiel absolut nahezu um das Doppelte gestiegen und im zweiten ersichtlich nur etwas oberhalb der Norm. Wir haben nach Folin, Myers und Fine u. a. mit Normalwerten von etwa 1,0 bis 1,5 mg Kreatinin in 100 ccm Blut zu rechnen[1]). Relativ paßt sich der erste Wert dem Anstieg des Gesamtreststickstoffs nicht ganz ein. Desgleichen wurden einzelne Ammoniakbestimmungen, ebenfalls nach Folin, gemacht[2]). Im Falle 17 betrug der Ammoniakstickstoff vorher 0,1 mg in 100 ccm Blut, nachher 0,5 mg, was absolut einer ansehnlichen, relativ einer nicht unbeträchtlichen Steigerung gleichkommt. Diese Angaben charakterisieren sich als gelegentliche, immerhin interessante Nebenbefunde, die zur Deutung weit größerer Anwendung und Förderung fähig und würdig sind.

Kritik der Ergebnisse.

Eine Kritik der Ergebnisse ist nicht ohne weiteres einfach. Was zunächst die absolute Erhöhung des gesamten Nichtprotein-

---

[1]) O. Folin, Journ. of Biolog. Chem. **17**, 473, 1914. — O. Folin und W. Denis, ebenda **17**, 487, 1914. — V. Myers und M. Fine, Journ. of Biolog. Chem. **20**, 398, 1915, ref. Chem. Centralbl. **9**, 486, 1915.

[2]) O. Folin in Abderhaldens Handb. d. Biochem. Arbeitsmethoden **7**, 722ff.

stickstoffs angeht, so könnte sie mit Erscheinungen von seiten der Niere am ehesten in Einklang gebracht werden. Doch muß man sich vergegenwärtigen, daß auch allgemeine Stauungszustände und Leberschädigungen, alimentäre Schwankungen unter Einfluß von Protein, Purin und Aminosäuregaben, ferner auch Störungen des Salz-Wasser-Temperaturgleichgewichts, beschleunigter Zerfall von Organsubstanz, höhere Werte veranlassen[1]).

Über den Einfluß von Infektionsvorgängen hat, was hier zwar nicht direkt verwertbar, aber immerhin interessant ist, zuerst Folin Beobachtungen beigebracht[2]). So fand er für Typhus in der zweiten Woche die obere Grenze des Normalen überschreitende Werte, für Pneumonie vor der Krise solche bis über das Doppelte der Norm. Nun ist bekanntlich nicht allein die absolute Höhe des Reststickstoffs maßgebend. Seine Aufteilung ergibt erst näheren Einblick. Betrachtet man seine prozentische Zusammensetzung, so findet man hohen (übernormalen) Gehalt an Harnstoff, besonders bei bestimmten Urämieformen. Ein Zwang, unsere Zahlen unter dem Bilde von nephrogenen Retentionserscheinungen zu betrachten, besteht indes nicht. Haben doch schon Abderhalden und Lampé gezeigt, daß bei hochgradiger Ermüdung der Gehalt an dialysierbaren, die Biuretreaktion nicht, wohl aber die Färbung mit Ninhydrin gebenden Substanzen weit geringer ist als in der Norm[3]). Dieses haben wir inzwischen tierexperimentell bestätigen können, wenigstens so weit, als der Vergleich mit unserem vorliegenden Material es verlangt.

Auf der anderen Seite kommen hier Verhältnisse in Betracht, die sich auf Versuche von Bang wie auch unsere eigenen Zahlen zurückführen lassen[4]). Bei mehr oder minder ausgedehnten Hungerperioden findet man eine Zurückdrängung

---

[1]) J. Feigl, Zum gegenwärtigen Stande der chemischen Blutuntersuchung. Vortrag Ärztl. Verein zu Hamburg 1916, 2. Mai. Hambg. Ärzte-Korresp. 1916, 14. Mai, 223; Münch. med. Wochenschr. 1916; Offiz. Protokoll des Vereins Deutsche med. Wochenschr. 1916.

[2]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. 17, 487, 1914.

[3]) E. Abderhalden und A. Lampé, Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, 136, 1913.

[4]) J. Bang, diese Zeitschr. 72, 120, 1916, sowie eigene Versuche.

des Aminosäureanteils zugunsten der schließlich von 70% auf 80% bis selbst 90% steigenden Harnstoffreaktion. Nebenher kommt es häufig, aber nicht überhaupt und immer, zu einem gleichzeitigen Anstieg des gesamten Nichtproteinstickstoffs.

Weiter sind von Interesse besonders die Befunde über den Ammoniakgehalt. Sie können nach den in der Literatur vorliegenden Zahlen zunächst mit Störungen der Nierenfunktionen verknüpft werden, gibt doch Folin u. a. Untersuchungsbefunde über Urämie mit einem Gesamtnichteiweißstickstoff von 88 mg, Harnstoff von 70 mg, Ammoniak von 1 mg (etwa 10 mal soviel als in der Norm angenommen) für 100 ccm Vollblut, sowie über einen Herz-Nierenfall mit bezüglich 26 mg, 12 mg und 0,5 mg[1]). Daß bei diabetischen Acidosen das Ammoniak gleichfalls steigt, ist bekannt. Nach den allerneuesten Auffassungen ist es im übrigen nicht zulässig, das Schwergewicht der Harnstoffbildung ganz in die Leber zu verlegen, vielmehr richtig, in diesem Vorgange eine generelle und ubiquitäre Gewebsfunktion zu erblicken[2]). Die Folgerung ist natürlich eine diagnostisch im qualitativen wie quantitiven Sinne nicht so eng begrenzte Verwertbarkeit der Ammoniakbefunde wie des Gehaltes an Aminosäuren. Einen absoluten Anstieg findet man bei Arthritiden, Nephritiden, Urämien, Acidosen, Infektionsvorgängen. Die Deutung fällt in diesen Spezialfragen dem relativen Zahlenverhältnis zu. Für unseren Fall bietet sich zwanglos die Möglichkeit, zunächst an die Acidose, für die sich aus unseren eigenen Harnuntersuchungen Anhalt und in der Literatur des Sports ein typisches Analogon findet, zu denken[3]) [4]). Kreatininbefunde greifen nicht nur auf Nierenschädigungen und -störungen, bei denen nach Myers und Fine allgemein Proportionalitäten zwischen Gesamtreststickstoff, Harnstoff, Kreatin und Kreatinin nicht bestehen, zurück. Sie sind auch beobachtet worden bei Störungen des endogenen Stoffwechsels der Purin- und Kreatingruppe, bei Neurasthenie, Myasthenie. Wichtig scheint nicht sowohl die Tatsache der Steigerung im endogenen Auftreten, als die sich dahinter verbergende Erscheinung der ge-

---

[1]) O. Folin und W. Denis, Journ. of Biolog. Chem. 17, 487, 1913.
[2]) A. Taylor und H. Lewis, Journ. of Biolog. Chem. 22, 1915.
[3]) J. Feigl und E. Querner, Arch. f. klin. Med. 1916.
[4]) Fr. Schwyzer, Biochem. Centralbl. 16, 1914, Ref. Nr. 2502.

störten Verbrennung, was im Gegensatz zu den stark abgenutzten Anteilen der Aminofraktion auffällt.

Es bleibt also für diese Schlacken wie überhaupt für die Reststickstofferhöhung eine gewisse Mehrdeutigkeit bestehen.

Die Verknüpfung und Gegenüberstellung zu den Ergebnissen der übrigen Blut- und Urinuntersuchungen unseres Arbeitsprogramms lehrt das Folgende. Eine Proportionalität des Nichteiweißstickstoffs zu Blutzucker und Dichte besteht nicht.

Stellt man nun die erhöhten Reststickstoffzahlen den zugehörigen Eiweißbefunden im Harn gegenüber, so ist ein Zusammenhang nicht zu konstruieren, da von 9 Fällen 5 positiven, 4 negativen Ausfall der Kochprobe zeigten.

Eher wäre schon die Verbindung mit dem hämolytischen Vorgange im Serum, d. i. den spektroskopischen Befunden an Hämatin und Oxyhämoglobin konstruierbar. Es ergeben sich für Nichteiweißstickstoff nach dem Marsche, soweit es sich um normale Werte handelt, bei der Hälfte der Teilnehmer Erscheinungen von seiten des Farbstoffs. Bei den erhöhten Werten wird zu fast 66 % ein hämolytischer bzw. hämochromzerstörender Vorgang im Serum sichtbar. Beziehungen zwischen Blutdrucksenkung und stärkerer Reststickstofferhöhung, etwa in dem Sinne, daß eine Herzschwäche mit bei dessen Auftreten im Spiele sei, haben sich aus den klinischen Untersuchungen von Feigl und Querner nicht ergeben[1]).

Schlußsätze.

Wir stellen also zunächst die experimentell durchaus sichergestellte und mit feineren Methoden näher spezialisierte Tatsache zur Diskussion, daß von den Teilnehmern forcierter Sportmärsche zufolge schwerer Überanstrengungen ein ansehnlicher Teil mit erhöhtem Nichteiweißstickstoff im Blute zurückkehrt. Die Überprüfung der ätiologischen Beziehungen unserer Befunde zwingt bei dem jetzigen Stande der Kenntnisse nicht unbedingt, die erhöhten Werte als Ausdruck einer nephrogenen Retention zu betrachten. Wenn wir uns vorerst einer derartigen Auffassung am ehesten zuneigen, so ist dies ein Ausfluß der Überzeugung, damit der wohldurchdachten Lehre von der Stauungs-

---

[1]) l. c. Zeitschr. f. klin. Med. 1916.

niere, der „Sportniere", nach Albu weiteren erläuternden Beitrag zu liefern. Damit gewinnen ja unsere Vorstellungen am leichtesten bestimmt gerichtete Formen, was einer anderweitigen Umdeutung zunächst wohl nicht so zwanglos gelingen würde.

Aus welchen Richtungen Wirkungen zu erwarten wären, die an unseren Zahlen im Sinne dieser Lehre einen verwischenden Einfluß auszuüben vermögen, sei kurz angedeutet. Auf Beziehungen zwischen Harnkonzentration und Menge des gesamten Nichteiweißstickstoffs bzw. Harnstoffs im Blut ist nur flüchtig gesehen worden, ohne daß sich Folgerungen ableiten ließen. Alimentäre Einflüsse des Vortages, solche am Morgen vor Antritt des Marsches, während des Marsches sind von Bedeutung. Diese können aber auf die Grundwerte nach Ausfall der Befunde kaum erheblich eingewirkt haben. Folgen von Flüssigkeitsaufnahmen sind nicht genügend bekannt.

In späteren Fällen wäre eindringlicher, als es bisher überhaupt geschehen ist und bei diesem Anlasse durchgeführt werden konnte, durch Belehrung, Umfrage resp. Angabe aus eigenem Antriebe (diese vielleicht bei einem geeigneten Teile einsichtiger Wettgeher) darüber statistisches Material zu beschaffen. Hier kann am ehesten der Sportarzt durch seinen Sachverstand und seine Beziehungen zu den Verbänden und Vorständen der ausübenden Vereine Fortschritte anbahnen, die dann der pathologischen Physiologie und Chemie des Sports — der trainierten Höchstleistung, wie Überanstrengung — Fixpunkte zur Betrachtung und Leitlinien zur Weiterarbeit zu liefern, dem ausübenden Sportler und vielleicht dem Militärdidakten praktisch münzbare Lehren an die Hand zu geben vermöchten. Die zweckmäßige und zwangsweise Vereinigung aller Faktoren unter der Idee der Fragestellungen kann in erster Linie durch das Tierexperiment verwirklicht, ebendamit eine durchsichtigere Lösung erzielt werden. Vorversuche in diesem Sinne wurden angebahnt.

Doppelbindung und Elektronentheorie.

Von

L. Spiegel (Berlin).

(Eingegangen am 27. Mai 1916.)

In seinen „kritischen Betrachtungen über die aktiven Zimtsäuren“[1]) weist Erlenmeyer im Anschluß an Pauly[2]) auf die Verwendbarkeit der Elektronentheorie von J. Stark zur Erklärung der von ihm beobachteten Tatsachen hin. Sowohl Stark als andere, die in den letzten Jahren sich mit der Benutzung der Elektronentheorie für die Deutung sogen. „ungesättigter“ und anderer Verbindungen beschäftigt haben, scheinen eine Abhandlung von mir „über Neutralaffinitäten“ aus dem Jahre 1902[3]) nicht berücksichtigt zu haben, in der ich auf die Möglichkeit hinwies, die angebliche Doppelbindung zwischen zwei C-Atomen durch Anlagerung zweier Elektronen, je eines positiven und negativen, zu erklären. Es scheint mir daher angebracht, diese Abhandlung, die ich später für die N-Verbindungen in meinem Buche „Der Stickstoff und seine wichtigsten Verbindungen“ etwas weiter ausgeführt habe, ins Gedächtnis zu rufen.

[1]) Diese Zeitschr. 74, 163, 1916.
[2]) Diese Zeitschr. 67, 439, 1914.
[3]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. 29, 365, 1902.

Zur Kenntnis der Gärungsaktivatoren.

Von

Hans Euler und Harald Hammarsten.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)

(Eingegangen am 27. Mai 1916.)

Die Einflüsse, welche die lebende Hefe durch Stoffe verschiedener Art erfährt, Einflüsse, die nicht nur wissenschaftliches Interesse besitzen, sondern auch für die Gärungsindustrien von sehr wesentlicher Bedeutung sind, konnten bis jetzt zum großen Teil noch nicht aufgeklärt werden, da es nicht feststand, ob das System der Gärungsenzyme bzw. die Gärungsreaktion durch die betreffenden Stoffe katalysiert wird, oder ob diese Stoffe eine Wirkung auf die Wachstumsvorgänge, besonders die Eiweißbildung, ausüben.

In vielen Fällen wurde einfach die Einwirkung auf die Kohlensäureentwicklung oder die Alkoholbildung untersucht, ohne Berücksichtigung einer gleichzeitigen Vermehrung oder Veränderung der Hefe; mehrfach wurde allerdings durch geeignete Gärungsbedingungen die Hefevermehrung ausgeschlossen. Dagegen liegen über die Beeinflussung des Hefenwachstums bis jetzt sehr wenig quantitative Untersuchungen vor. In der Tat sind dieselben mit bedeutend größeren Schwierigkeiten verknüpft als Gärkraftmessungen, besonders wenn man nicht mit großen Hefemengen arbeiten und doch die günstigen Resultate erreichen will, die bei der Arbeit im großen Maßstab gewonnen worden sind. Die Wahl einer geeigneten Versuchsmethodik ist hier außerordentlich wichtig, und wir wollen daher zunächst auf unsere experimentelle Anordnung eingehen.

Versuchsmethodik.

Die Gärung ging in der Regel in 1,5-Literflaschen vor sich, in denen sich 200 ccm Lösung und 5 g Oberhefe (Brennereihefe)

befand. Die Lüftung geschah in derselben Weise wie in der Technik; aus einer am Boden des Gärgefäßes befindlichen gewundenen Röhre (als bestes Material erwies sich Kautschukschlauch) wurde durch zahlreiche Öffnungen Luft durch die gärende Lösung geblasen. Diese Luft war durch Waschen mit Kalilauge von Kohlensäure befreit und darauf wieder mit Wasserdampf gesättigt. Der aus dem Gärgefäß austretende Luftstrom wurde zunächst in einem Chlorcalciumrohr getrocknet und gab dann in zwei hintereinandergeschalteten Geißlerschen Kaliapparaten, der letztere mit Kalirohr versehen, sämtliche Kohlensäure ab. Nur in diesen Kaliapparaten konnte ein starker Luftstrom vollständig von CO_2 befreit werden. Nach gewissen Zeiten wurden Chlorcalciumrohr und Kaliapparate gewechselt, was mittels T-Rohr und Hähnen ohne CO_2-Verlust geschehen konnte. Nach 5 Stunden wurde der Inhalt des Gärgefäßes quantitativ in einen Becher übergespült, und die Hefe wurde von der Flüssigkeit getrennt. Hierbei wurde mit verschiedenen Methoden experimentiert. Nachdem wir einige Zeit mit einer Zentrifuge gearbeitet hatten, gingen wir dazu über, die Hefe auf Büchner-Trichtern unter Anwendung starken Filtrierpapiers abzusaugen, was ungefähr $^1/_2$ Stunde in Anspruch nahm. Der Heferückstand wurde nun quantitativ auf Tonplatten übergeführt und hier vom größten Teil des Wassers befreit. Dann wurde die Hefe quantitativ in einen Porzellantiegel gebracht und bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. In entsprechender Weise wurden 5 g der Hefe, die zur Verwendung kamen, behandelt und ihr Gewicht quantitativ bestimmt.

Mit der früher im hiesigen Laboratorium angewandten Methode der Zellenzählung liefert diese Methode natürlich nicht immer übereinstimmende Ergebnisse. Die Wägungsmethode ist weniger genau, aber wenn es sich, wie hier, um die Bestimmung der Substanzbildung handelt, methodisch richtiger.

1. Aktivierende Salze aliphatischer Säuren.

Vor einiger Zeit hat der eine von uns mit H. Cassel[1]) die Tatsache beschrieben, daß Alkali- und Ammoniumsalze or-

[1]) Euler und Cassel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 86, 122, 1913. Siehe auch Euler, ebenda 87, 142, 1913.

ganischer Säuren, besonders solche der Ameisensäurereihe und von Oxysäuren, die Gärungsgeschwindigkeit (Triebkraft) der Hefe erhöhen, und zwar schon relativ kleine Mengen (0,02 bis 0,05 %) um 50 bis 100 % des ursprünglichen Wertes. Dieser überraschende, aber bisher seiner Natur nach nicht aufgeklärte Befund scheint sich nicht auf eine Einwirkung dieser Salze auf die Gärungsenzyme zurückführen zu lassen, da der katalytische Effekt bei Trockenhefe sehr viel schwächer ausfällt als bei frischer Hefe; manches deutet darauf hin, daß man es hier mit einer Oberflächenerscheinung zu tun hat, bzw. mit einer Veränderung der Oberflächenschicht (Plasmahaut) der Hefe.

Harden und Young[1]) haben bald nach Erscheinen der genannten Arbeit die Vermutung geäußert, daß es sich möglicherweise bei der besprochenen Katalyse um eine Begünstigung des Hefewachstums handelt. Dies war nun allerdings bei Berücksichtigung der Zusammensetzung der gärenden Lösung nicht wahrscheinlich, aber soweit Ammoniumsalze zur Anwendung kamen, nicht außerhalb des Bereichs der Möglichkeit. Bereits früher angestellte Vorversuche sprachen nicht für die Annahme der englischen Forscher, unsere jetzt mitzuteilenden Versuche schließen dieselbe endgültig aus.

1. Vorversuch.

In 300 ccm Lösung: 1,5 g KH_2PO_4, 0,08 g Asparagin, 0,05 g $MgSO_4$, 9 g Rohrzucker, 5 g Brennereihefe aus der V.L.B. in Berlin.

Intensive Lüftung während der Gärung.

	Mit 0,2 g Ammoniumformiat g CO_2	Ohne Formiat g CO_2
In 5 Stunden	2,62	2,22

Vermehrung des Hefegewichtes:

Mit Formiat	Ohne Formiat
21,5 %	29,1 %

1. Versuch.

200 ccm Lösung, enthaltend: 1 g KH_2PO_4, 0,8 g Asparagin, 0,05 g $MgSO_4$, 6 g Rohrzucker, 5 g Stockholmer Brennereihefe von 29 % Trockensubstanz.

---

[1]) Harden und Young, Biochem. Journ. 7, 630, 1913.

Intensive Lüftung während der Gärung.

	Mit 0,133 g Ammoniumformiat g CO_2	Ohne Formiat g CO_2
1. bis 2. Stunde . . .	0,4300	0,3709
3. „ 4. „ . . .		0,7187
5. „ . . .	0,5722	0,4379
		1,5275

2. Versuch.

	Mit 0,459 g Ammoniumformiat g CO_2	Ohne Formiat g CO_2
1. bis 2. Stunde . . .	0,4097	0,2971
3. „ 4. „ . . .	0,9889	0,7524
5. „ . . .	0,4449	0,4559
	1,8435	1,5054

Die Einwirkung des Formiates auf die Gärkraft steigt mit steigender Formiatmenge.

Vermehrung des Hefegewichtes im Mittel:

0,1 % Formiat	Ohne Formiat
20,0 %	29,3 %

Wir erhalten also folgendes Ergebnis: Während unter den gewählten Versuchsbedingungen eine starke Erhöhung der Triebkraft durch den Formiatzusatz eintritt, wird der Zuwachs der Hefe nicht nur nicht erhöht, sondern wesentlich vermindert.

2. Einwirkung von Alkaliphosphat auf das Hefewachstum.

Daß die Anwesenheit von Phosphat in der Nährlösung unter den in der Technik vorhandenen Gärungsbedingungen den Hefezuwachs fördert, ist eine bekannte Tatsache, ebenso daß Phosphat ein unumgänglich notwendiger Bestandteil der Hefe ist. Ferner weiß man, besonders durch die Untersuchungen aus dem Berliner Institut für Gärungsgewerbe (Schönfeld und Mitarbeiter), daß zwischen Eiweißgehalt und Triebkraft einerseits und Phosphatgehalt andererseits, bestimmte Beziehungen bestehen. Der Einfluß von Phosphaten auf die Gärung der Hefe ist neuerdings durch zahlreiche Arbeiten untersucht und zum Teil aufgeklärt worden. Gleichzeitige Messungen über das Wachstum der Hefe liegen aber unseres Wissens nicht vor.

Vor kurzer Zeit haben Euler und Tholin festgestellt, daß sich die nunmehr bekannte Aktivierung der Gärung durch Phosphate, die in schwachsaurer Lösung eintritt, in eine Hemmung verwandelt, wenn die Lösung alkalisch wird, und zwar schon bei einer so schwachen OH-Konzentration wie 10^{-6}. Unsere Versuche bezogen sich auf die Frage, in welcher Weise das Hefenwachstum durch Phosphate beeinflußt wird bei verschiedener Reaktion der Lösung.

1. Saure Lösung, $p_{H^{\cdot}} = 4{,}5$.

In 200 ccm Lösung: 1 g KH_2PO_4, 0,8 g Asparagin, 0,05 g $MgSO_4$, 5 g Stockholmer Brennereihefe von 30% Trockensubstanz.

Intensive Lüftung.

a) 6 g Glucose in 200 ccm Lösung.

	Mit 10 g Phosphatgemisch g CO_2	Ohne Phosphatzusatz g CO_2
1. bis 2. Stunde . .	0,4753	0,2853
3. „ 4. „ . .	0,7626	0,6791
5. „ . .	0,3989	0,4726
	1,6368	1,4370

Vermehrung des Hefegewichtes im Mittel aus zwei Versuchen:

Mit 10 g Phosphatgemisch	Ohne Phosphatzusatz
30%	33%

b) 6 g Fructose in 200 ccm Lösung.

	Mit 10 g Phosphatgemisch g CO_2	Ohne Phosphatzusatz g CO_2
1. bis 2. Stunde . .	0,4951	0,2780
3. „ 4. „ . .	0,7579	0,7863
5. „ . .	0,4002	0,3314
	1,6532	1,3957

Vermehrung des Hefegewichtes:

Mit 10 g Phosphatgemisch	Ohne Phosphatzusatz
32%	30%

2. Neutrale Reaktion, $p_{H^{\cdot}} = 7{,}0$ bis 7,4.

In 200 ccm Lösung: 1 g KH_2PO_4, 0,8 g Asparagin, 0,05 g $MgSO_4$, 6 g Rohrzucker, 5 g Brennereihefe v. 30% Trockengehalt. Intensive Lüftung.

	Mit 10 g Phosphatgemisch g CO_2	Ohne Phosphatzusatz g CO_2
1. bis 2. Stunde . .	0,2058	0,3744
3. „ 4. „ . .	0,5883	0,6703
5. „ . .	0,3092	0,3567
	1,1033	1,4014

Vermehrung des Hefegewichtes:

Mit 10 g Phosphatgemisch	Ohne Phosphatzusatz
33%	31%

3. Alkalische Reaktion, $p_{H^{\cdot}} = 8{,}0$.

Vermehrung des Hefegewichtes:

Mit 10 g Phosphatgemisch	Ohne Phosphatzusatz
3,1%	16,5%

4. Einwirkung von Kaliumacetat, $p_{H^{\cdot}} = 7{,}7$.

200 ccm Lösung, enthaltend: 1 g KH_2PO_4, 0,8 g Asparagin, 0,5 g $MgSO_4$, 12 g Rohrzucker, 5 g Brennereihefe.

Vermehrung des Hefegewichtes:

Mit 8,1 g Kaliumacetat	Ohne Kaliumacetat
2,1%	12,2%

Es tritt also unter den gewählten Versuchsbedingungen bei Zusatz von Kaliumacetat unter Beibehaltung der Acidität eine Hemmung des Hefenwachstums ein, die von der gleichen Größenordnung ist wie die durch Phosphate hervorgerufene.

In Rücksicht auf die früher von Harden und im hiesigen Laboratorium gefundenen Unterschiede bei der Vergärung von Glucose und Fructose wurden an diesen beiden Zuckerarten einige vorläufige Parallelversuche über Phosphatwirkung angestellt.

Alkalische Reaktion, $p_{H^\cdot} = 7{,}8$.

3% Zucker, 5% Kaliumphosphatgemisch. — 4 g Oberhefe.

Vermehrung des Hefegewichts	Glucose	Fructose
5% Kaliumphosphatgemisch .	25,2%	26,1%
ohne Phosphatzusatz	24,3%	26,6%
g CO_2 in 5 Stunden		
5% Kaliumphosphatgemisch .	0,625	0,210
ohne Phosphatzusatz	1,264	0,860

2. Versuch.

Vermehrung des Hefegewichts	Glucose	Fructose
5% Kaliumphosphatgemisch .	10,7%	12,5%
ohne Phosphatzusatz	11,3%	12,3%

Zusammenfassend können wir sagen, daß die Wirkung der Phosphate auf die Gärungsgeschwindigkeit der Hefe, die im allgemeinen in mäßig saurer Lösung beschleunigend, in neutraler und alkalischer Lösung hemmend ist, mit der Wirkung auf das Hefewachstum nicht parallel geht.

Die mitgeteilten Versuche werden weiter ausgearbeitet und fortgesetzt.

Studien zur allgemeinen Vergiftungslehre.

II.

Über die Verhütung von Strukturvergiftungen, zugleich eine Methodik zur biochemischen Ermittlung kleiner Substanzmengen.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 30. Mai 1916.)

In der ersten Mitteilung habe ich schematisch drei Typen von Zellvergiftungen unterschieden:

1. Ferment-Vergiftungen.
2. Fermentbildungs-Vergiftungen.
3. Struktur-Vergiftungen.

Da es sich um einen prinzipiellen Arbeitsplan handelt, bei dem zu enge Fassungen in erster Linie vermieden werden müssen, so sei folgendes angeführt. Zu der ersten Gruppe rechnet man zweckmäßig für die Probleme der Toxikologie neben den Vergiftungen der eigentlichen Fermente, also der Zellsubstanzen, die als Katalysatoren wirksam sind, auch die Vergiftungen der übrigen hochwirksamen Zellagentien, wie Hormone. Es wären hier die Vergiftungen aller Zellsubstanzen zu vereinigen, die in kleinster Menge starke Wirkungen hervorrufen, also neben den Fermenten die pharmakologisch wirksamen Zellsubstanzen. Aus mehreren Gründen scheint es mir ratsam, in der Zellular-Toxikologie diese Stoffe mit den Fermenten zusammen zu gruppieren. Einmal ist es sehr wahrscheinlich, daß die pharmakologische Wirkung verschiedener dieser Stoffe auch eine katalytische ist, denn es handelt sich bei der

Gruppierung einer Substanz als Ferment und als pharmakologisches Agens um zwei vollkommen getrennte Einteilungsprinzipien, die nicht miteinander konkurrieren. Ferner ist die Wirksamkeit dieser Stoffe auch zumeist an die Existenz labiler Atomgruppierungen geknüpft, so daß bei den Fragestellungen sich Analogien mit den Fermenten ergeben dürften. Für die Aufklärung der Giftwirkungen wird es nun von Nutzen sein, daß hier vielfach die chemische Konstitution der wirksamen Agentien bekannt ist.

Bei der zweiten Gruppe, für die — mutatis mutandis — dieselben Betrachtungen wie bei der ersten gelten, haben wir gezeigt, daß die durch Sublimat vergifteten Zellen nicht wieder dadurch reaktiviert werden können, daß man ihnen durch Cyankalium das Sublimat entreißt, indem man dem Sublimat die Gelegenheit zum Eintritt in eine Komplexverbindung gibt. Damit war aber die Frage noch nicht beantwortet, ob die fertige komplexe Verbindung hemmend auf die Fermentbildung wirkt.

Auf diesen Punkt kommen wir später noch zurück. Heute wollen wir zeigen, daß die Strukturvergiftungen, die durch Sublimat und durch Kupfersulfat bewirkt werden, nicht zustande kommen, wenn man diese Metallverbindungen vorher in komplexe Verbindungen überführt. Reaktivierungsversuche sind hier ja natürlich ausgeschlossen.

Versuche.

Sublimat agglutiniert in größeren Dosen rote Blutzellen, in kleineren bewirkt es Hämolyse. Zu den Versuchen wurde zunächst die Dosis ermittelt, in der gerade komplette Hämolyse von gewaschenen, roten Blutzellen durch Sublimat eintritt.

In der üblichen Weise wird das Blut von Kaninchen nach dem Defibrinieren durch Zentrifugieren und durch mehrfaches Waschen mit 0,85 %iger Kochsalzlösung vom Serum befreit. Dann wird eine 5 %ige Aufschwemmung der roten Blutzellen hergestellt. Es wird nun geprüft, wieviel einer verdünnten Sublimatlösung nötig ist, um 1 ccm der Blutzellen vollständig zu lösen. Mit Kochsalzlösung wird immer überall dieselbe Verdünnung hergestellt, auch wird das Sublimat immer in Kochsalzlösung gelöst.

Es wird 1 ccm Blutzellen vollständig gelöst durch 0,7 ccm der Sublimatlösung 1 : 100000, während schon bei 0,4 ccm die Lösung beginnt.

Fügt man nun zu dem Sublimat vor der Mischung mit den Blutzellen Cyankalium, so ergibt sich folgendes:

In 11 Röhrchen tun wir je 1 ccm Sublimat = 0,00001 g Sublimat.

Dazu steigende Mengen Cyankaliumlösung.

Endlich 1 ccm Blutkörperchen.

Cyankaliummenge	Resultat
0	vollständige Hämolyse
0,001 mg	
0,002 „	
0,003 „	
0,004 „	inkomplette Hämolyse
0,005 „	
0,006 „	
0,007 „	keine Spur Hämolyse.
0,008 „	
0,009 „	
0,010 „	

Den Versuch kann man mannigfach variieren; immer ergibt sich, daß bei genügender Cyankaliummenge die hämolytische Wirkung des Sublimats aufgehoben wird, daß also die entstehende komplexe Verbindung keine Strukturvergiftung bewirkt.

Neben der Sublimat-Hämolyse haben wir auch die Agglutination und Hämolyse durch Kupfersulfat studiert und hier unsere Anschauung von dem Wesen der Verhütung der Strukturvergiftung noch weiter dadurch gestützt, daß wir neben dem Cyankalium auch Glykokoll als Antihämolysin anwandten und auch mit dieser Substanz eine vollkommene Verhütung der Vergiftung erzielten. Damit scheint mir der Mechanismus dieser Wirkung völlig einwandfrei aufgeklärt.

Die Versuche mit Kupfersulfat wurden ganz so angestellt, wie die mit Sublimat. 0,3 ccm krystallisiertes Kupfersulfat (1 : 10000) ist die kleinste Dosis, die Hämolyse macht, bei 0,9 ccm ist sie komplett, bei stärkeren Dosen tritt Agglutination ein.

Mischt man nun 1 ccm Kupfersulfat (1:10000) mit steigenden Mengen Cyankalium (1:10000), so erhält man folgende Resultate:

Cyankalium	
0	komplette Hämolyse
0,1 ccm	komplette Hämolyse
0,2 „	inkomplette Hämolyse
0,3 „	inkomplette Hämolyse
0,4 „	inkomplette Hämolyse
0,5 „	inkomplette Hämolyse
0,6 „	keine Spur Hämolyse.
0,7 „	keine Spur Hämolyse.
0,8 „	keine Spur Hämolyse.
0,9 „	keine Spur Hämolyse.
1,0 „	keine Spur Hämolyse.

Glykokoll (1:1000) hat folgende Wirkung:

Glykokoll		
0	komplette	Hämolyse
0,1 ccm	geringe	„
0,2 „	keine	„

Ebenso auch bei größeren Glykokollmengen; bei ganz großen Dosen (1,0) erhält man wieder eine Spur Hämolyse, die durch das Glykokoll verursacht wird.

Es ist also gezeigt, daß Sublimat und Kupfersulfat durch ihre Überführung in die komplexen Cyankalium- oder Glykokollverbindungen ihrer hämolytischen Wirksamkeit beraubt werden. Ohne weiteres leuchtet ein, daß hier eine Methodik zum biochemischen Nachweis kleiner Substanzmengen gegeben ist. Wir haben in der Richtung sehr eingehende Versuche gemacht, auf die hier nicht eingegangen werden soll. Aber es ist ersichtlich, daß man z. B. den Gehalt einer ungemein verdünnten Cyankaliumlösung genau ermitteln kann, wenn man mit Sublimat eine bekannte Cyankaliumlösung austitriert, indem man die Blutzellen als Indicator nimmt und dann mit der bekannten Lösung die zu prüfende vergleicht. Will man in Blutserum Cyankalium nachweisen, so muß man entweder die Blausäure zunächst durch Destillation gewinnen, oder man untersucht das Serum direkt. In letzterem Falle ist aber zu berücksichtigen,

daß auch Blutserum eine gewisse Hemmung der Sublimathämolyse bewirkt. Man kann sich aber auch hier vor Fehlern schützen, wenn man mit stärkeren Sublimatlösungen arbeitet (1 : 50000), da dann die Hemmungskraft des verdünnten Serums quantitativ nicht mehr in Betracht kommt.

Zusammenfassung.

Die Strukturvergiftung der roten Blutzellen durch Quecksilbersublimat oder durch Kupfersulfat läßt sich durch Überführung der Salze in komplexe Verbindungen mit Hilfe von Cyankalium oder Glykokoll verhüten. Es ist hier eine Methodik gegeben, die zum quantitativen Nachweis kleinster Substanzmengen wird angewandt werden können. Ihre Verwertbarkeit für die Blausäure haben wir bereits erprobt. Es ist möglich, daß man die Verhütung der Hämolyse als Reagens für chemische Zwecke wird heranziehen können, indem man eine schnelle Orientierung über die Entstehung einer komplexen Verbindung gewinnt.

Über den Zusammenhang zwischen Kohlenhydrat- und Phosphatstoffwechsel bei Diabetes.

Von

Hans Euler und Olof Svanberg.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)

(Eingegangen am 1. Juni 1916.)

Mit 4 Figuren im Text.

Den Untersuchungen über Kohlenhydratstoffwechsel und Phosphatumsatz bei Diabetes, die der eine von uns (H. E.) bereits im Jahre 1912 begonnen hat, liegt die Annahme zugrunde, daß der Zerfall der Hexosen im Tierkörper in ähnlicher Weise geschieht bzw. beginnt, wie die Gärungsspaltung, und daß die Zuckerspaltung im Tierkörper im ähnlichen Sinne enzymatisch verläuft, wie man dies in der Hefe annehmen muß.

Nachdem durch die Arbeiten von L. Iwanoff, Harden und Young, sowie Euler und seiner Mitarbeiter die wesentliche Rolle der Phosphate bei der alkoholischen Gärung erkannt und untersucht ist, läßt sich erwarten, daß auch in tierischen Organen, Geweben und Flüssigkeiten die Zuckerspaltung durch Phosphate, und zwar sowohl durch anorganische wie organische bzw. durch Aktivatoren, die dem Koenzym von Harden und Young entsprechen, beschleunigt wird.

Die ersten diesbezüglichen Versuche hatten ein negatives Resultat ergeben. Da es nach den Ergebnissen von Harden und Maclean nicht angängig erschien, maßgebende Versuche ohne Zusatz antiseptischer Mittel anzustellen, wurde stets unter Zusatz von Toluol gearbeitet, obwohl die Möglichkeit vorlag, daß enzymatische Substanzen in ihrer Wirkung stark beeinträchtigt werden. Weder mit frischen Muskeln, noch mit Leber von Kaninchen konnten Andeutungen einer Gärungsspaltung

erhalten werden. Diese und andere negative Resultate haben dann zu folgender Überlegung[1]) Anlaß gegeben.

Auch im Tierkörper wird, wie in der Hefe, der Zuckerzerfall in mehreren Phasen verlaufen, an denen verschiedene Enzyme beteiligt sind. Es ist die Möglichkeit gegeben, daß diese Enzyme räumlich voneinander getrennt sind, so daß die primäre Umwandlung des Zuckers in einem Organ *A*, die eventuelle intermediäre Bildung eines Phosphorsäureesters in einem anderen Organ *B*, und die schließliche Bildung von Kohlensäure in einem Organ *C* erfolgt.

Weder *A* noch *B* oder *C* würden dann für sich die Gärung der Hexosen vermitteln können. Es wird sich also darum handeln, die Wirkung der beteiligten Organe zu kombinieren bzw. auf diejenigen Zwischenprodukte wirken zu lassen, an deren Umwandlung sie speziell beteiligt sind.

Wird nun vom Organismus die erste Phase der Zuckerspaltung im betreffenden Organ *A* unvollständig oder gar nicht ausgeführt, so wäre damit der normale Zuckerabbau im Organismus überhaupt unmöglich gemacht. Es bleibt dann aber noch immer die Möglichkeit, daß die am weiteren Zuckerabbau beteiligten Enzyme normal funktionieren, und daß somit ein Zwischenprodukt, wie der im Kohlenhydratphosphorsäureester, dem „Zymophosphat“ $C_6H_{10}O_4(PO_4Na_2)_2$ enthaltene Zuckerrest dem normalen Abbau unterliegt[2]).

Die Untersuchungen, die im hiesigen Laboratorium in dieser Richtung angestellt wurden, sind in letzter Zeit insofern von Erfolg gewesen, als endlich Anhaltspunkte über das Auftreten der Neubergschen Carboxylase in einem am Kohlenhydratstoffwechsel beteiligten Organ, nämlich der Leber, gefunden wurden.

Über das Auftreten der „Phosphatese“, des Enzyms, das das Zymophosphat bildet, und der spaltenden „Phosphatase“ wird bald an anderer Stelle berichtet werden können.

---

[1]) Euler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 77, 496, 1912.

[2]) Außerordentlich interessante Versuche, die zum Teil von ähnlichen Gesichtspunkten ausgehen, hat inzwischen Embden mit seinen Mitarbeitern gewonnen (Zeitschr. f. physiol. Chem. 93, 1, 1914). Vgl. zum Diabetesproblem auch M. Jacoby, Deutsche med. Wochenschr. 42, 478, 1915.

Die Versuche, die wir hier mitteilen wollen, schließen sich an eine Untersuchung an, die der eine von uns Herbst 1912 mit dem nunmehr verstorbenen Prof. G. Forssner in Upsala angestellt hat. Es hatte sich in zwei Fällen von Diabetes nach subcutaner Einführung von Koenzym aus Hefe, oder genauer, nach Einführung des Substanzgemisches, das man durch Extraktion von Trockenhefe mit Wasser und Entfernung der Eiweißkörper und des anorganischen Phosphates erhält, eine deutliche, wenn auch nicht sehr große Herabminderung des Zuckergehaltes (10 bzw. 18 $^0/_0$ des Wertes) ergeben. In 5 Fällen, in denen das gleiche Präparat per os eingegeben wurde, erzielte man bei 14- bis 22tägiger Behandlung mit täglich 0,05 g dieser Substanz 2 positive Resultate (Erniedrigung des Zuckergehaltes um 12 bzw. 28 $^0/_0$), 1 negatives Resultat (Erhöhung um 15 $^0/_0$) und 2 Fälle waren ohne merkbare Einwirkung. In einem Fall war ein besseres Resultat erzielt worden, nachdem die Extraktion des Präparates in der Wärme mit 25 $^0/_0$igem Alkohol erfolgt war, der 5 $^0/_0$ Salzsäure enthielt (Präparat c).

Dieses Ergebnis erweckte die Vermutung, daß es sich bei einer eventuellen Wirkung auf die Zuckerspaltung um einen den Vitaminen nahestehenden Aktivator handeln könne. Es wurde deshalb die genannte Darstellungsweise beibehalten und mit diesem Präparat (c) die Untersuchung zweier neuer Fälle vorgenommen. Wie früher wurde dabei nicht nur die Zuckerausscheidung, sondern auch der Phosphatumsatz verfolgt. Der Vorstand des Stockholmer Krankenhauses, Herr Oberarzt Dr. Hultgren, war so freundlich, mir zwei geeignete Fälle zur Verfügung zu stellen, und die Abmessung der Diät und der Exkremente während der gesamten Versuchsperiode ausführen zu lassen.

Über den Zustand der zuletzt untersuchten beiden Diabetiker teilen Herr Oberarzt Dr. Hultgren und Herr Dr. Lindberger folgendes mit:

Sjögr., Johan Gustaf, 43 Jahre. Unter einer akuten Krankheit wurde 1913 gefunden, daß der Patient an Diabetes mellitus litt. Krankheit von gelinder Art, so daß der Patient durch mäßige Einschränkung der Kohlenhydrate leicht zuckerfrei wird. Neujahr 1914 Nierenblutung in Zusammenhang mit Tuberkulose in der rechten Niere. Sommer 1915 erstes Zeichen von Tuberkulose in einem Rückenwirbel, die sich weiter bis zur völligen Lahmheit der unteren Extremitäten entwickelt hat. Die Zucker-

krankheit befindet sich in dem Stadium, daß der Patient noch durch Kohlenhydratkarenz zuckerfrei gemacht werden kann, hat sich aber insofern verschlimmert, als Patient auch bei relativ kohlenhydratfreier Kost geringe Acetonelimination zeigt (im allgemeinen nicht über 0,1 g pro Tag).

Jon., Anders Gustaf, 66 Jahre. Leidet seit etwa 10 Jahren an vermehrtem Durst und großen Urinmengen, aber erst seit Aufnahme in das Stockholmer Krankenhaus (23. IX. 1911) wurde Diabetes mellitus diagnostiziert. Die Krankheit seitdem ziemlich stationär; Patient befindet sich am besten bei ziemlich kohlenhydratfreier Kost, wobei er bei einer Urinmenge von etwa 3 Liter pro Tag 100 bis 200 g Zucker ausscheidet. Ist unter diesen Umständen acetonfrei; bei strengerer Kohlenhydratkarenz stellt sich ziemlich bald Ketonurie ein.

Eine genaue Angabe und Berechnung der Diät soll im Zusammenhang mit der Berechnung des Phosphatgleichgewichtes in einer folgenden Mitteilung gegeben werden. Hier wollen wir uns auf die Angabe einer mittleren Diät beschränken.

1. Frühstück: 85 g Tee, 15 g Sahne, 40 g Zwieback.

2. Frühstück: 500 g Milch, 250 g Hafersuppe, 76 g Kaffee, 15 g Sahne, 45 g gekochten Schinken, 15 g Zwieback, 40 g Delikateßbrot, 10 g weiches Brot, 20 g Butter, 40 g Käse, 15 g gesalzenes Fleisch.

Mittag: 100 g gekochter Fisch, 80 g Buttertunke, 145 g Kartoffel, 320 g Haferbrei, 500 g Dünnbier, 70 g Kaffee, 15 g Sahne.

Abendessen: 10 g weiches Brot, 40 g Butter, 55 g Käse, 40 g gehacktes Fleisch, 310 g Hafergrütze, 500 g Milch und 20 g gesalzenes Fleisch.

Diese mittlere Diät, die nun in geeigneter Weise variierte, wurde beibehalten sowohl während der Woche der Voruntersuchung, in der die tägliche Analyse des Urins in bezug auf PO_4 und Zucker, sowie die Analyse der Fäces begann, als während der Dauer des eigentlichen Versuchs, in der den Patienten das obengenannte Präparat, und zwar zuerst 0,25 g, dann 0,5 g, dann 1 g täglich gegeben wurde, und schließlich während der Nachperiode.

Die Eingabe des Präparates geschah zunächst in 20%iger Lösung in Form des Natriumsalzes, dann in wäßriger Aufschlemmung in Form einer Calciumverbindung.

Ausführung der PO_4-Analysen.

Zur Bestimmung der anorgan. Phosphorsäure wurde die Probe (stets 40 ccm der erhaltenen Harnmenge) direkt mit Magnesiamischung und Ammoniak in der Kälte gefällt. Um eine etwaige Verseifung der Phosphorsäureester zu vermeiden, wurde schon nach einigen Minuten abfiltriert und der Niederschlag in Salpetersäure gelöst. Dieses Wiederauflösen war notwendig, weil sich im Harn ein Bodensatz vorfand, der in Salpetersäure unlöslich war und auf dem Filter zurückblieb. Die salpetersaure Lösung wurde nach der Molybdatmethode untersucht und der PO_4-Gehalt gravimetrisch als $Mg_3P_2O_7$ bestimmt. Um die gesamte, sowohl anorganisch wie organisch gebundene Phosphorsäure auszufällen, wurden 40 ccm der Probe mit Salpetersäure (10 %) eine Stunde digeriert und nach Verdünnen mit Wasser wie oben nach der Molybdatmethode untersucht.

Die Zuckerbestimmungen

geschahen stets durch Polarisation im 5- oder 10 cm-Rohr und außerdem durch Titration nach der Methode von Pavy-Kumagawa-Suto-Kinoshita[1]). In allen Fällen ergab sich eine ziemlich vollständige Übereinstimmung zwischen beiden Methoden, woraus hervorging, daß mit keinen Komplikationen hinsichtlich des im Harn reduzierenden Zuckers gerechnet zu werden brauchte.

Ergebnisse.

Die Resultate der Phosphatanalysen an beiden oben genannten Patienten werden in den folgenden 3 Tabellen und in Fig. 1 zusammengefaßt.

Am 19. April wurde mit der Eingabe des Präparates *C* begonnen, und zwar mit 0,25 g bei beiden Patienten; dieselbe Menge erhielten sie am 20. April; 21. bis 23. April wurde 0,5 g gegeben und vom 21. bis 29. April 1 g in Form einer Calciumverbindung bzw. nach Fällung der wäßrigen Lösung mit $CaCl_2$.

---

[1]) Siehe Neuberg, Der Harn. 1. Bd.

Tabelle I.

Harnanalysen der ersten Versuchsperiode (12. IV. bis 18. IV. 16).

Sjögr.		12. IV.	13. IV.	14. IV.	15. IV.	16. IV.	17. IV.	18. IV.
Menge in ccm		2200	2275	1975	1700	2275	1900	2100
In 40 ccm gef. $Mg_2P_2O_7$	Anorg.+org. g	—	0,0900	0,0927	0,0820	0,0882	0,0841	0,0827
	Anorg. g	0,0917	0,0894	0,0930	0,0882	—	—	—
Entsprechend der Total-PO_4-Absonderung	Anorg.+org. g	—	4,37	3,91	3,48	4,28	3,41	3,71
	Anorg. g	4,30	4,34	3,92	3,52	—	—	—

Jon.		12. IV.	13. IV.	14. IV.	15. IV.	16. IV.	17. IV.	18. IV.
Menge in ccm		3000	2500	2800	2600	2500	2650	2800
In 40 ccm gef. $Mg_2P_2O_7$	Anorg.+org. g	0,0370	0,0356	0,0335	0,0419	0,0376	0,0301	0,0309
	Anorg. g	0,0372	0,0371	0,0324	0,0439	—	—	—
Entsprechend der Total-PO_4-Absonderung	Anorg.+org. g	2,37	1,90	2,00	2,33	2,01	1,70	1,85
	Anorg. g	2,38	1,98	1,94	2,44	—	—	—

Tabelle III.

Harnanalysen der dritten Versuchsperiode (26. IV. bis 5. V. 16).

Sjögr.		30. IV.	1. V.	2. V.	3. V.	4. V.	5. V.
Menge in ccm		1700	1750	1700	—	1900	1600
In 40 ccm gef. $Mg_2P_2O_7$	Anorg.+org. g	0,0957	0,0885	0,0833	—	0,0681	0,0846
	Anorg. g	0,0961	0,0881	0,0822	—	—	—
Total-PO_4-Absonderung	Anorg.+org. g	3,47	3,30	3,02	—	2,76	2,89
	Anorg. g	3,49	3,29	2,98	—	—	—

Jon.		30. IV.	1. V.	2. V.	3. V.	4. V.	5. V.
Menge in ccm		—	2350	2500	—	2700	2000
In 40 ccm gef. $Mg_2P_2O_7$	Anorg.+org. g	—	0,0390	0,0387	—	0,0378	0,0416
	Anorg. g	—	0,0378	0,0381	—	—	—
Total-PO_4-Absonderung	Anorg.+org. g	—	1,96	2,06	—	2,18	1,78
	Anorg. g	—	1,90	2,03	—	—	—

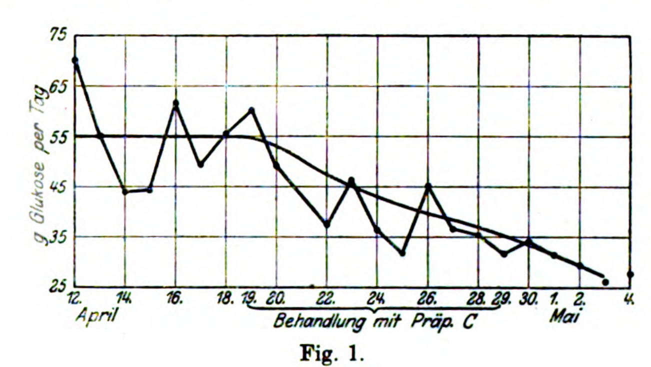


Fig. 1.

Die im Harn gefundenen Zuckermengen findet man in Tabelle IV für den einen der beiden Patienten. Die Zahlen der letzten Reihe sind noch in Fig. 2 vereinigt. Man sieht aus der Figur deutlich, wie vom 1. Behandlungstag an die pro Tag

Tabelle II.

Harnanalysen der zweiten Versuchsperiode (19. IV. bis 29. IV. 1916.)

Sjögr.			19. IV.	20. IV.	21. IV.	22. IV.	23. IV.	24. IV.	25. IV.	26. IV.	27. IV.	28. IV.	29. IV.
Menge in ccm			2100	2150	1750	1700	1800	1650	1500	1650	1800	1725	1500
In 40 ccm gef. $Mg_2P_2O_7$	Anorg.+org.	g	0,0904	0,0926	0,0922	0,0875	0,1055	0,1026	0,0902	0,0851	0,0891	0,0869	0,0965
	Anorg.	g	—	—	—	0,0877	0,1061	0,1020	0,0900	—	—	—	0,0956
Total-PO_4-Absonderung	Anorg.+org.	g	4,05	4,25	3,44	3,17	4,05	3,61	2,89	3,00	3,42	3,20	3,09
	Anorg.	g	—	—	—	3,18	4,08	3,59	2,288	—	—	—	3,06

Jon.			19. IV.	20. IV.	21. IV.	22. IV.	23. IV.	24. IV.	25. IV.	26. IV.	27. IV.	28. IV.	29. IV.
Menge in ccm			2500	2800	2500	3200	2300	2500	3000	3000	2500	2800	2800
In 40 ccm gef. $Mg_2P_2O_7$	Anorg.+org.	g	0,0405	0,0375	0,0340	0,0388	0,0506	0,0500	0,0421	0,0417	0,0386	0,0373	0,0375
	Anorg.	g	—	—	—	0,0382	0,0501	0,0496	0,0421	—	—	—	0,0368
Total-PO_4-Absonderung	Anorg.+org.	g	2,16	2,24	1,81	2,65	2,48	2,67	2,69	2,67	2,06	2,23	2,24
	Anorg.	g	—	—	—	2,61	2,46	2,65	2,69	—	—	—	2,20

Tabelle IV.

Sjögr., Johan Gustaf.

Tägliche Zuckermengen.

Datum	April																	Mai				
	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	1.	2.	3.	4.	5.
% Zucker	—	2,58	2,71	2,58	2,64	2,86	2,27	2,46	2,18	2,58	2,18	2,09	2,73	2,04	2,06	2,09	2,00	1,82	1,73	1,37	1,37	—
Harn-Volumen	—	1700	2275	1900	2100	2100	2150	—	1700	1800	1650	1500	1650	1800	1725	1500	1700	1700	1700	1900	2000	—
Total	—	43,9	61,7	49,1	55,4	60,00	48,9	—	37,1	46,4	36,0	31,4	45,0	36,7	35,5	31,4	34,0	30,9	29,4	25,9	27,3	—

ausgeschiedene Zuckermenge sinkt, und zwar mit mehr als 50 %. Man wird nicht umhin können, hierin den Einfluß des eingegebenen Präparates zu sehen. Gleichzeitig fällt langsam der

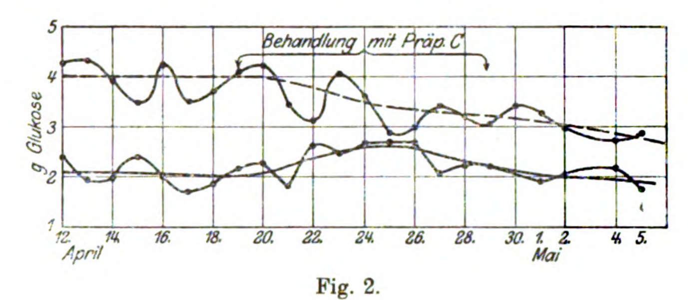


Fig. 2.

Gehalt des Harns an Total-PO_4. Dieser Gehalt fällt übrigens mit demjenigen an anorganischem Phosphat nahe zusammen.

Nicht ganz so sicher wie die eben genannten Zahlen sind die Ergebnisse der Zuckeranalysen beim zweiten Patienten, besonders weil hier öfters Gärungserscheinungen die Analysenresultate beeinflußten. Hier wurde übrigens auch keine Abnahme der täglichen Zuckerausscheidung erzielt (Fig. 3).

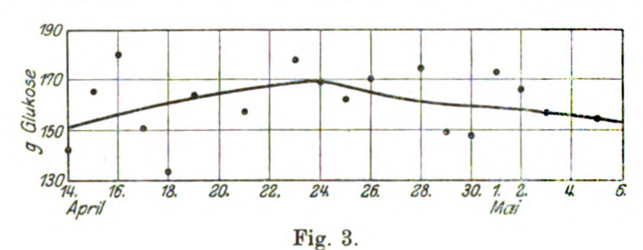


Fig. 3.

Wir möchten nicht unterlassen, schon hier darauf aufmerksam zu machen, wie in den beiden Fällen, im ersten Fall bedeutend mehr ausgeprägt, gleichzeitig mit der ausgeschiedenen Zuckermenge die ausgeschiedene PO_4-Menge steigt und fällt, allerdings in ungleichem Grade.

Nach unseren gegenwärtigen Erfahrungen scheint eine derartige Parallelität bei Diabetikern nicht selten einzutreten.

Unter den Fällen, die der eine von uns im Jahre 1912 im hiesigen Serafimerlazarett durch gütiges Entgegenkommen des Abteilungschefs, Herrn Dozenten Dr. A. Josefson, zu untersuchen Gelegenheit hatte, zeigte sich eine ähnliche Parallelität

auch bei einem Patienten mit viel höherer Zuckerausscheidung (Ökonom Olof August Stef—n, 39 Jahre alt). Wie aus den Kurven der Fig. 4 hervorgeht, ist hier die Variation von aus-

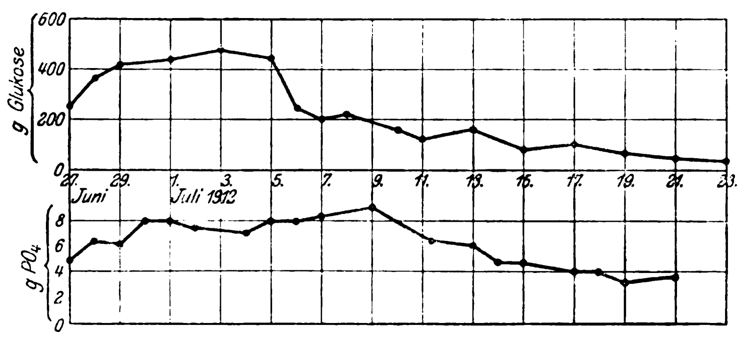


Fig. 4.

geschiedenem PO_4 und Zucker auch der Größenordnung nach gleich, was sonst selten vorzukommen scheint.

Die weitere Diskussion der mitgeteilten Ergebnisse möchten wir uns für die zweite Mitteilung vorbehalten.

Beiträge zur Chemie der Saponine.

(Polyscias-Saponine, Krystallin. α-Hederin, Guajac- und Saponaria-Saponine, Senegin, Digitonin und Aralia-Saponine)[1].

Von

A. W. van der Haar.

(Eingegangen am 6. Juni 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Einleitung.

Obschon in mehr als 300 Pflanzenarten Saponine aufgefunden sind, war bis vor kurzer Zeit von diesen meist amorphen, aber sonst sehr charakteristischen Substanzen chemisch sehr wenig bekannt. Die Ursache liegt in erster Stelle in der amorphen Beschaffenheit fast aller Vertreter, wozu noch die weitere Schwierigkeit kommt, chemische Individuen zu fassen, weil die Saponine meist hochmolekulare, in homologen Reihen vorkommende Substanzen sind, von denen die meisten zu der Kobertschen $CnH_{2n-8}O_{10}$ und die wenigsten zu der Flückigerschen Reihe $CnH_{2n-10}O_{18}$ gehören. Überdies hat man sich selten Mühe gegeben, sich von der Mehrzahl der Saponine in einer Pflanze durch Fraktionierung zu überzeugen; höchstens hat man die Anwesenheit von Saponingruppen festgestellt; unzweifelhaft sind dann auch die Mehrzahl der für Saponine gegebenen Formeln als der mittlere Wert des anwesenden Gemisches aufzufassen.

---

[1]) Die Ergebnisse der nachfolgenden Untersuchungen sind zum Teil als Dissertation der Universität Bern im Jahre 1913 eingereicht. Ferner werden noch einige nicht veröffentlichte Ergebnisse hier mitgeteilt. Der botanische Teil (die Blätter der beiden Araliaceae Polyscias nodosa und Hedera helix) wird an anderer Stelle wiedergegeben werden. Sie sind durch weitere Befunde ergänzt (siehe auch Arch. d. Pharm. **247**, 213; **250**, 424 u. 560; **251**, 217 u. 632).

Auch von dem unlöslichen Spaltungsprodukte, dem Sapogenin, obwohl oft kristallinisch, war in chemischer Hinsicht wenig bekannt.

In den letzten Jahren ist von mehreren Seiten das Interesse auf diese für das Pflanzenleben gewiß wichtigen Substanzen gelenkt worden, sei es im chemischen, physiologischen oder pharmakologischen Sinne. Die Pharmakologie der Saponine, nämlich ihre Wirkung auf Fische, andere Tiere, Blut usw., ist am frühesten und am eingehendsten studiert worden.

In rein chemischem Sinne beginnen wir auch etwas mehr Klarheit zu erlangen. Es handelt sich nunmehr nicht mehr darum, vor allem neue, ebenso unbekannte Saponine, ausgenommen die krystallinischen, herbeizutragen, sondern tiefer in ihren Chemismus einzudringen. Es würde uns zu weit führen, näher auf die Saponinliteratur einzugehen.

Nach Abspaltung der Monosaccharide sind die kristallinischen Sapogenine als Ausgangspunkt am besten zu wählen.

Chemischer Teil.

In der Hoffnung, einmal ein krystallinisches Saponin, also einen reinen chemischen Körper in die Hände zu bekommen, untersuchte ich das Saponin aus den Blättern einer niederländisch-ostindischen Araliaceae, erhalten aus Buitenzorg von W. G. Boorsma, der bei vorläufiger Untersuchung die Blätter als saponinhaltig erkannt hatte.

Zwar hat diese Untersuchung nicht zu einem krystallinischen Saponin geführt (wohl zu einem schön krystallinischen Sapogenin), jedoch wurde meine Aufmerksamkeit auf die europäische Araliaceae, Hedera helix L., den Efeu, gelenkt. Dieser hat mir nicht nur ein schön krystallinisches, an Polyscias-Sapogenin chemisch und krystallographisch sehr verwandtes Sapogenin (Hederagenin genannt) geliefert, sondern auch ein schön krystallinisches reines Hederin, das, wie wir unten sehen werden, auf Grund chemischer Verwandtschaft zu den Saponinen zu zählen ist.

Es stellte sich, wie wir sehen werden, heraus, daß nicht nur die beiden genannten Sapogenine miteinander große Verwandtschaft zeigen, sondern ebenso, und das ist das Wichtigste, mit den Sapogeninen der als echt geltenden und am meisten

genannten Saponine, Guajac- und Saponaria-Saponine, Senegin und Digitonin, indem sie sich bei der Zinkstaubdestillation im H_2-Strome analog verhalten und dabei Kohlenwasserstoffe der Terpenreihe geben; bei Senegenin und Digitogenin fehlte noch Material zu einer Analyse bei den orientierenden Versuchen; sie sind also als Terpenabkömmlinge zu betrachten; doch hierüber später.

Die Polyscias-Saponine.

Nachdem zur Gewinnung der Polyscias-Saponine die Greenesche Magnesiamethode, die Kobertsche Bleimethode und die Boorsmasche Methylalkoholmethode miteinander verglichen wurden, wurde die Boorsmasche als die beste gewählt. Die Kobertsche Methode war hier nicht verwendbar, weil, wie aus dem nächsten Artikel: „Beiträge zur Pharmakologie der Saponine“, erhellt, die Polyscias-Saponine durch den Schwefelwasserstoff in ihrer toxischen Wirkung sehr abgeschwächt werden oder diese sogar ganz verloren geht.

Das schließlich erhaltene Saponin war amorph, weiß, aschefrei. Nach der Fraktioniermethode, durch Hinzufügung von Äther an die methylalkoholische Lösung, und durch Elementaranalysen und Molekulargewichtsbestimmungen der erhaltenen Fraktionen konnte festgestellt werden, daß die Polyscias-Saponine Homologe der Kobertschen Reihe sind, nämlich:

$$C_{22}H_{36}O_{10} — C_{25}H_{42}O_{10}.$$

Mittels der Acetylierung konnte festgestellt werden, daß die Saponine 7 Hydroxylgruppen enthalten, also geschrieben werden können:

$$C_{22}H_{29}O_3(OH)_7 — C_{25}H_{35}O_3(OH)_7.$$

Die Kalischmelze ergab nur Essigsäure, Ameisensäure, Buttersäure und eine krystallinische, mit Ferrichlorid eine schwachrote Färbung gebende, weiter unbekannt gebliebene Substanz (Schmelzpunkt 150 bis 152°).

Die Behandlung mit kalter Salpetersäure, spez. Gew. 1,5, gab nur Pikrinsäure und wahrscheinlich Benzoesäure.

Das Saponin wurde von Ammonsulfat ausgesalzen (Grenze, wobei noch Ausflockung stattfindet: 2 ccm einer Lösung 1 = 500 mit 7 ccm gesättigter $(NH_4)_2SO_4$-Lösung gekocht).

Das Saponin reißt bei der Aussalzung gelöste Farbstoffe, wie Methylenblau usw., nieder.

Das Saponin gibt eine Kupferverbindung mittels Fehlingscher Lösung, welche Verbindung, in 50%iger Chloralhydratlösung gelöst, bei Überschichtung mit absolutem Alkohol sich in schönen, blauen Krystallen an der Wand des Gefäßes absetzt, von der Zusammensetzung: 14,14% C, 3,65% H (organisch gebunden), 38,32% Cu, 26,39% O (organisch gebunden) und 17,5% Krystallwasser.

Hydrolytische Spaltung der Saponine.

Mittels Kochens mit 5%iger Schwefelsäure wird das Saponin in rund 35% Sapogenin, 33% l-Arabinose und 37,6% d-Glucose gespalten. Die Summe der 3 Spaltlinge ist also richtig über 100%. Flüchtige Substanzen, die andere Autoren sonst bei einigen Saponinen annehmen, sind hier also nicht aufgefunden.

l-Arabinose, als Osazon, Methylphenylhydrazon und p-Bromphenylhydrazon nachgewiesen, wurde nach der Tollens-Krügerschen Pentosanbestimmung quantitativ bestimmt. d-Glucose in Gestalt von Osazon und zuckersaurem Silber, wurde mittels Fehlingscher Lösung nach der Lehmann-Schoorlschen Methode nach Abzug der gefundenen Menge Arabinose bestimmt.

Die Polyscias-Sapogenine.

Wie zu erwarten war, entstanden bei der Hydrolyse mehrere Sapogenine aus dem Saponingemisch. Es gelang mir, ein krystallinisches Sapogenin durch wiederholtes Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol als reinen Körper abzusondern, mit dem Schmelzpunkte 324° im Rothschen Apparate.

Die Verbrennungen, im offenen Rohre ausgeführt, mittels CuO und Luft und mittels CuO und O, stimmten auf $C_{13}H_{22}O_2$, welche Formel nach der kryoskopischen Methode mit Phenol im Eykmanschen Depressimeter verdoppelt werden muß, also:

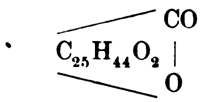
$$C_{26}H_{44}O_4.$$

Das Sapogenin hat weiter folgende Eigenschaften:

1. Rhombische Krystalle, von dem Makrodoma $(\bar{1}0\bar{1})$ und dem Prisma (110) begrenzt. Siehe für andere krystallographischen Merkmale das Original und die bei Hederin wiederge-

gebenen Zeichnungen. Der Habitus hat sehr große Übereinstimmung mit dem Hederagenin.

2. Sublimiert bei $\pm 303^{\circ}$ und 60 mm Druck.
3. Enthält eine Lactongruppe, keine Carboxylgruppe.
4. Enthält keine Hydroxyl- oder Oxymethylgruppen.
5. Es wird also geschrieben:



Bevor wir zu der allgemeinen Schwefelsäure-Reaktion der Saponine schreiten, sei hier erwähnt, daß in den Polysciasblättern d-Glucose und d-Fructose als frei vorkommende Zucker aufgefunden wurden. Obschon dies ein oft vorkommendes Ereignis, ist es wünschenswert, den Untersuchungsgang wiederzugeben, weil hier eine Bestätigung allgemeiner Tatsachen gefunden wurde.

Die löslichen Monosaccharide wurden hauptsächlich in den Außenflüssigkeiten der Saponindialyse aufgefunden. Nach Vorreinigung mittels normalen Bleiacetats wurden sie durch basisches Bleiacetat und Ammoniak niedergeschlagen, ausgewaschen, in Wasser verteilt, durch H_2S zerlegt, und das Filtrat wurde unter Hinzufügung von $CaCO_3$ zu einem Sirup eingedampft. Der braune Sirup wurde mittels absoluten Alkohols und Tierkohle gereinigt und schließlich wieder als Sirup gewonnen, aus dem nichts krystallisierte.

Mit Fischers Hydrazin-Gemisch konnte ein Osazon erhalten werden, das nach Umkrystallisation aus 40%igem Alkohol und Abwaschung mit Aceton bei 204° schmolz. Mannose war nicht vorhanden, und das erhaltene Osazon deutete auf d-Glucose oder d-Fructose oder auf beides. Da die Identifikationsmittel für d-Fructose nicht zahlreich sind, besitzen wir in dem Ketosenreagens von Neuberg[1]) ein ausgezeichnetes Mittel, Ketosen neben Aldosen nachzuweisen, nämlich im Methylphenylhydrazin:

Neuberg (l. c.) gibt zu einer Lösung von 1,8 g d-Fructose in 10 ccm Wasser 4 g Methylphenylhydrazin und so viel

---

[1]) C. Neuberg, Über die Isolierung von Ketosen. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **35**, 959, 1902.

Alkohol, bis ein klares Gemisch entsteht. Nach Zugabe von 4 ccm 50%iger Essigsäure färbt sich die Flüssigkeit schnell gelb. Nach 5 bis 10 Minuten Erwärmen im Wasserbade scheidet sich ein dunkelgefärbtes Öl ab, das in einem Kältegemisch nach einigen Stunden krystallinisch als Osazon erstarrt. Aus 10%igem Alkohol umkrystallisiert, ist der Schmelzpunkt 153°, es sind dann gelbrote Nadeln. Aus einem Gemisch von Chloroform und Petroläther krystallisieren hellgelbe Nadeln mit Schmelzpunkt 158 bis 160°. Mit Glucose, Mannose, Chitosaminchlorhydrat oder -bromhydrat entsteht diese Verbindung nicht.

Ofner[1]) hat jedoch behauptet, daß Glucose mit Methylphenylhydrazin gleichfalls unter Osazonbildung bei 37° reagiert und will damit beweisen, daß diese Reaktion nicht so typisch für Ketosen ist, wie Neuberg angibt. Ich konnte feststellen und daher Neubergs Behauptung bestätigen, daß unter den von ihm angegebenen Bedingungen bei Glucose sich erst nach einigen Wochen ein Öl ausscheidet, das nicht erstarrt, während bei Fructose sich schnell ein Öl abscheidet, das in einem Kältegemisch schnell erstarrt; es krystallisiert aus einem Gemische von Chloroform und Petroläther in gelben Nadeln. Auch aus Mischungen von Fructose und Glucose werden diese Krystalle erhalten.

Ofner gegenüber hat Neuberg also vollkommen recht, zu behaupten, daß Methylphenylhydrazin ein spezifisches Fruchtzuckerreagens ist, unter Innehaltung der von Neuberg angegebenen Bedingungen.

Im oben beschriebenen Sirup war zu wenig d-Fructose vorhanden, um ein Methylphenylosazon zu geben.

Die d-Fructose wurde nach der Pinoffschen Reaktion[2]) mit α-Naphthol, Alkohol und Schwefelsäure und ebenso nach der von Schoorl und van Kalmthout[3]) abgeänderten Seliwanoffschen Reaktion[4]) identifiziert.

d-Glucose wurde nach der Bergschen Reaktion[6]) als all-

---

[1]) Ofner, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 2603, 1904.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **38**, 3308, 1905.

[3]) Schoorl und van Kalmthout. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 283, 1906.

[4]) Seliwanoff, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **20**, 181, 1887.

[6]) Berg, Bull. soc. chim. de Paris [3] **31**, 1216, 1904.

gemeine Aldosen-Reaktion, und als p-Nitrophenylhydrazon nach Alberda van Ekenstein und Blanksma[1]) (Schmpt. 185°) nachgewiesen.

Von den Blattenzymen wurden nachgewiesen: Peroxydase, Katalase, Amylase, Invertase und Emulsin. Letzteres ist ein saponinspaltendes Emulsin, und es spaltet Amygdalin ebenso. Die Blätter, die 5,8 % Saponin aufweisen, enthalten in dem Schleimbeleg der sezernierenden Zellen der schizogenen Gänge Pektin, welches Pentosane enthält.

Die allgemeine Saponin-Schwefelsäure-Reaktion.

Wie bekannt, geben die Saponine beim Übergießen mit starker Schwefelsäure nach einigem Stehen eine schön violette Farbe, meistens vom Rande der Flüssigkeit aus.

Es lag mir der Gedanke nahe, daß es sehr wohl möglich sein könnte, daß den Saponinen als sonst in sich geschlossener Glucosidgruppe derselbe oder ein verwandter Kern zugrunde liegt, weil diese Reaktion für alle Saponine geltend ist.

Das Polyscias-Saponin und das weiter zu besprechende Hederin geben die allgemeine Reaktion sehr schön. Und nicht nur die Saponine, sondern ebenso ihre Sapogenine, und zwar noch schöner. Wir sehen hieraus, daß der gemeinschaftliche Kern in dem Sapogenin ruht und nicht in dem Zuckerkomplex. Wir können also die allgemeine Reaktion auf die Sapogenine übertragen.

Nun gelang es mir, wie gesagt, das Hederagenin mittels der Zinkstaubdestillation im H_2-Strome zu Terpenkohlenwasserstoffen abzubauen und den mit Wasserdampf flüchtigen Anteil als ein Sesquiterpen ($C_{15}H_{24}$) zu identifizieren, welche die violette Farbe mit H_2SO_4 gab, und besonders schön, wenn eine Spur, in Eisessig gelöst, mit $^1/_2$ Tropfen Schwefelsäure gemischt wurde.

Wenn also diese aufgefundene Tatsache von allgemeiner Bedeutung sein sollte, so mußten auch andere Sapogenine sich in analoger Weise verhalten. Wie wir unten noch weiter ausführlicher erörtern werden, war das in der Tat der Fall bei den untersuchten Sapogeninen des Guajacs, der Saponaria, des

[1]) Alb. van Ekenstein und Blanksma, Recueil d. Trav. chim. des Pays Bas 22, 434, 1903.

Senegins (mit einem nicht wesentlichen Unterschied) und des Digitonins.

Ich stellte also fest:

„die bekannte allgemeine violette Schwefelsäurereaktion der Saponine ist eine Terpenkernreaktion der Saponine geworden".

Nachdem obiges festgestellt war, wurde aus Mangel an Polyscias-Saponin zu den Glucosiden des Efeus, der europäischen Araliaceae geschritten, indem dieses uns wieder etwas weiter brachte.

Hederin.

Nachdem die Glucoside des Efeus zu wiederholten Malen untersucht worden waren, zuletzt von Vernet, der ein Glucosid mit Schmelzpunkt 233° isolierte, und im Jahre 1899 von Houdas, der aus dem Vernetschen Gemisch ein Glucosid mit Schmelzpunkt 248°, von ihm „Hederin" genannt, isolierte, war Houdas geneigt anzunehmen, es mit „einem" Glucosid zu tun zu haben. Er gab die Formel $C_{64}H_{109}O_{10}$, und für das Hederidin (von mir Hederagenin genannt) $C_{26}H_{40}O_4$, mit Schmelzpunkt 324° (Formel Blocks).

Auf mein Original verweisend, gebe ich hier an, daß alle Forscher, auch Houdas es mit einem Glucosidgemisch zu tun hatten, daß die von Hartsen und von Vernet als Spaltungszucker aufgefundene Hexose, Hederose, und ebenso von Houdas als „nicht gärungsfähige Hexose" erkannt, nicht besteht, sondern l-Arabinose ist, die neben Rhamnose vorkommt; daß schließlich Hederagenin, so wie Hederin eine andere Zusammensetzung haben, und, alles zusammengenommen, die Houdassche Spaltungsgleichung, sowie die Vernetsche, unrichtig sind.

Der Name „Hederose", der in den meisten Büchern über Zucker und Glucoside, und ebenso im Tollensschen kurzen Handbuch der Kohlenhydrate 1914 vorkommt, ist daher zu streichen und durch l-Arabinose zu ersetzen.

Darstellung des α-Hederins.

Die Gewinnung zerfällt in folgende Phasen:

1. Ausziehen der Blätter mit Wasser. (Entfernung u. a. von Δ-Glucosiden.)

2. Nach Trocknung der unter 1 ausgezogenen Blätter, Ausziehung mit starkem Alkohol. Der Alkohol wird abdestilliert, der Trockenrückstand wird mit Petroläther, Äther und Aceton ausgewaschen.

3. Umkrystallisierung des erhaltenen Rohglucosids aus heißem Aceton, unter nachheriger Wasserhinzufügung, bis das Glucosid einen Schmelzpunkt 233° hat (Vernetsches Glucosid). Entfernung hauptsächlich von amorphem γ-Glucosid.

4. Umkrystallisierung des unter 3 erhaltenen Produktes aus Methylalkohol, wie bei Aceton, bis der Schmelzpunkt 248° beträgt (Houdassches Glucosid). Entfernung hauptsächlich von krystallinischen β-Glucosiden.

5. Umkrystallisierung des unter 4 erhaltenen Produktes aus absolutem Äthylalkohol, unter Hinzufügung von Petroläther, bis der Schmelzpunkt 256 bis 257° beträgt. Für ganz reine Substanz noch einige Male zu wiederholen.

Das in feinen Nadeln erhaltene α-Hederin ist sodann als ein einheitliches Glucosid zu betrachten, weil sein Schmelzpunkt, beim wiederholten Umkrystallisieren, auch aus verschiedenen Lösungsmitteln, sich nicht ändert.

Eigenschaften des α-Hederins, des α-Hederagenins und Spaltungsgleichung des α-Hederins.

α-Hederin krystallisiert in feinen farblosen Nädelchen, unlöslich in Wasser und in Petroläther, löslich in Äthyl- und Methylalkohol, Pyridin, Eisessig und Aceton, schwer in Äther. Es ist schwachsauren Charakters.

Weil in Wasser unlöslich, schäumt es nicht in Wasser, entbehrt also diese Saponin-Eigenschaft. Doch ist hier kein prinzipieller Unterschied von den löslichen Saponinen vorhanden, denn, wird Hederin in Alkohol gelöst, in viel Wasser ausgegossen, dann schäumt die teilweise Lösung sehr stark beim Schütteln. Wie wir sehen werden, ist Hederin auch chemisch so verwandt mit echten Saponinen, daß es unzweifelhaft zu den Saponinen zu zählen ist.

Das mit 5%iger Schwefelsäure schwer zu spaltende α-

Hederin wird zerlegt in äquimolekulare Mengen α-**Hederagenin**, **l-Arabinose** und **Rhamnose**, nach der Gleichung:

$$\underset{\alpha\text{-Hederin}}{C_{42}H_{66}O_{11}} + 3\,H_2O = \underset{\alpha\text{-Hederagenin}}{C_{31}H_{50}O_4} + \underset{\text{Arabinose}}{C_5H_{10}O_5} + \underset{\text{Rhamnose}}{C_6H_{12}O_5}.$$

α-Hederin hat 2 Mol. Krystallwasser, 5 Hydroxylgruppen und eine Oxymethylgruppe.

α-Hederagenin hat eine Lactongruppe und 2 Hydroxylgruppen.

Die Spaltungsgleichung in teilweisen Strukturformeln wird also geschrieben:

$$C_{41}H_{58}O_5(OH)_5\cdot OCH_3 + 3\,H_2O = C_{30}H_{48}\left\langle\begin{matrix}CO\\ |\\ O\\ OH\\ OH\end{matrix}\right. + C_5H_{10}O_5 + C_6H_{12}O_5.$$

Weil das α-Hederin eine freie Oxymethylgruppe besitzt, diese in α-Hederagenin fehlt, eine Methylgruppe in Rhamnose wiedergefunden wird, so ist anzunehmen, das bei der Inversion des Hederins die Kette zwischen O und CH_3 der Oxymethylgruppe gesprengt ist.

Indem auch die anderen Hedera-Glucoside, sowohl die amorphen wie die krystallinischen, nur Arabinose und Rhamnose, sowie ein Hederagenin, das mit dem α-Hederagenin identisch ist (siehe vergleichende Übersicht), abspalten, so sind die Efeublätter eine gute Quelle für die Gewinnung von l-Arabinose und Rhamnose. Ich habe sowohl das Hederagenin, sowie Arabinose und Rhamnose in größeren Quantitäten und in schönen, reinen Krystallen erhalten.

Krystallographie des α-Hederagenins.

Es krystallisiert in schönen, glänzenden rhombischen Krystallen, außerordentlich dem Polyscias-Sapogenin ähnlich, von Makrodoma und Prisma, manchmal auch noch von einer Basis begrenzt. Siehe die verschiedenen Formen in der Zeichnung.

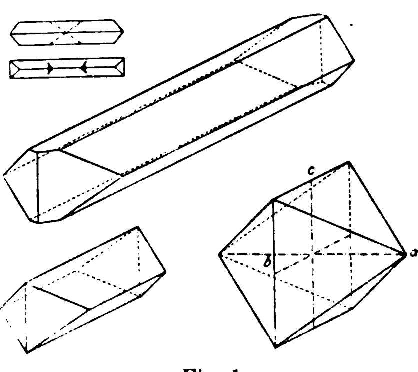


Fig. 1.

Übersichtstabelle der 3 Sapogenine.

Krystall. Polyscias-Sapogenin	α-Hederagenin	Hederagenin der übrigen Efeu-Saponine
1. Rhomb. Prismen mit Makrodoma.	1. idem.	1. idem.
2. Gefundene Zusammensetzung: C = 74,65 % H = 10,42 % $= C_{35}H_{42}O_2$ (CO, O)	2. Gefundene Zusammensetzung: C = 76,47 % H = 10,255 % $= C_{30}H_{48}$ (CO, O, OH, OH)	2. Gefundene Zusammensetzung: C = 76,44 % H = 10,2 % $= C_{30}H_{48}$ (CO, O, OH, OH)
3. Gefundenes Molekulargewicht 434.	3. 416.	3. 363.
4. α_D^{18} in Pyridin = + 75,58°.	4. α_D^{9} in Pyridin = + 81,2°.	4. + 81,5°.
5. Schmelzpunkt 324°.	5. 325—326°.	5. 325—326°.
6. Sublimiert.	6. idem.	6. idem.
7. Ein Lacton.	7. idem.	7. idem.

Zinkstaubdestillation im H_2-Strome des α-Hederagenins.

Nachdem ich also die große Verwandtschaft mit Polyscias-Sapogenin erkannt hatte, wurde die weitere Strukturuntersuchung auf das in viel größeren Mengen erhaltene Hederagenin übertragen.

Nachdem ich im Jahre 1912 die ersten Resultate der Zinkstaubdestillation wiedergegeben hatte, fand ich eine Untersuchung von Winterstein und Blau[1]), die Sapindussapogenin mittels der Zinkstaubdestillation im H_2-Strome zu Kohlenwasserstoffen abgebaut hatten, und eine von Halberkann[2]), der aus Assamin durch einfache Erhitzung sauerstoffhaltige Produkte und Kohlenwasserstoffe erhalten hatte. (Nähere Untersuchung ist hier sehr wünschenswert.)

Portionen von 5 g Hederagenin, mit 40 g Zinkstaub gut gemischt, wurden aus einer tubulierten Retorte auf dem Sandbade erhitzt unter Hindurchleitung von gewaschenem, trockenem Wasserstoff. In der Vorlage sammelte sich Wasser, ein leichtgelbes Öl und nachher ein dickeres, grün fluorescierendes Öl.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 433.
[2]) Diese Zeitschr. 19, 313, 1909.

Das gesammelte Öl wurde mittels Wasserdampfdestillation getrennt in ein mit Wasser flüchtiges Öl und in eine zähe, geruchlose Masse, die in dem Kolben zurückblieb.

Das mit Wasserdampf flüchtige Öl, das nach der elementaren Zusammensetzung, Molekulargewichtsbestimmungen und sonstigen Eigenschaften als ein Sesquiterpen ($C_{15}H_{24}$) zu betrachten ist, gab nun die violette Farbe mit Schwefelsäure, besonders schön, wenn eine Spur in Eisessig gelöst, mit $^1/_2$ Tropfen starker Schwefelsäure gemischt wurde.

Die zähe Masse gibt, in derselben Weise behandelt, eine grüne, dann eine blaue Färbung, also die Liebermannsche Cholestolprobe, auch in Chloroform und Schwefelsäure.

In dem genannten Sesquiterpen haben wir also die Substanz (oder den Kern) zu sehen, die die Hederagenin-H_2SO_4-Reaktion verursacht.

Nachherige, noch nicht veröffentlichte Untersuchungen haben mir gezeigt, daß der nicht mit Wasserdampf flüchtige Anteil der Zinkstaubdestillationsprodukte als eine Polymerisation oder Umlagerung oder beides, des mit Wasserdampf flüchtigen Sesquiterpens aufzufassen ist; also ist $C_{15}H_{24}$ primär.

Das Sesquiterpen addiert Brom zu flüssigen Produkten, ist also ungesättigten Charakters, addiert ebenso Salzsäure zu flüssigen Produkten. Es ist optisch inaktiv. Siedepunkt unter Atmosphärendruck $\pm 245^0$ bis 255^0.

Ohne noch näher auf die letzte Strukturuntersuchung dieses Sesquiterpens eingehen zu können, hat sich schon die Formel des α-Hederagenins $C_{31}H_{50}O_4$, aufgelöst in:

```
OH            CO
  \          / |
   (C15H24)2   |  .
  /          \ |
OH             O
```

Die Untersuchung wird fortgesetzt.

Zinkstaubdestillation der anderen Sapogenine.

Wenn die von mir ausgesprochene Vermutung, daß auf Grund der allgemeinen Saponin-Schwefelsäurereaktion (die bei Hederin und Hederagenin sich in eine Sesquiterpenreaktion gelöst hat) die Saponine verwandten Kern besitzen sollten, richtig ist, so müssen auch andere Saponine analoge Verhältnisse zeigen.

Das war auch tatsächlich der Fall, denn die Sapogenine des Guajac-Saponins, des Saponins und des Sapotoxins der Levantinischen Saponaria, des Senegins und des Digitonins, verhielten sich bei der Zinkstaubdestillation im Wasserstoffstrome wie bei Hederagenin. Auch hier konnte das Öl durch Wasserdampf getrennt werden in einen mit demselben flüchtigen Anteil, Terpenkohlenwasserstoffe, die die schöne violette Farbe mit Eisessig-H_2SO_4 oder mit H_2SO_4 allein liefern, und in einen mit Wasserdampf nicht flüchtigen Anteil, wieder die Liebermannschen Cholestolprobe gebend. Nur bei Senegenin waren die Verhältnisse in den Farbenreaktionen umgekehrt; das macht jedoch vorläufig nichts aus. (Es sei bemerkt, daß Kiliani[1]) die Vermutung aussprach, Digitogenin stehe in Beziehung zu den Terpenen, auf Grund der Tatsache, daß Digitogenin beim Verbrennen einen Terpengeruch entwickelt.) Diese Beobachtung war mir damals unbekannt.

Der mit Wasserdampf flüchtige Anteil hatte resp. bei Guajac-, Saponaria-Saponin und -Sapotoxin folgende Verbrennungszahlen:

$$C = 88{,}91\,\% \text{ und } H = 10{,}8\,\%,$$
$$C = 89{,}39\,\% \text{ und } H = 10{,}72\,\%,$$
$$C = 89{,}37\,\% \text{ und } H = 10{,}7\,\%.$$

Diese Zahlen stimmen auf stark kohlenstoffhaltige Kohlenwasserstoffe, zwar nicht auf Sesquiterpene. Aber das Merkwürdige ist, daß sie dieselbe empirische Zusammensetzung besitzen, was in Verbindung mit den übrigen Eigenschaften auf große Analogie und Verwandtschaft deutet.

Am Schlusse dieser Untersuchungen konnte ich also den Satz aussprechen:

„Das weitere Studium der Saponine ist in die Chemie der Terpene verlegt worden.“

Nach meiner ersten Veröffentlichung im Jahre 1912 über die Zinkstaubdestillation, hat Sieburg[2]) seine Helleboretine in derselben Weise behandelt und ebenso Terpenkohlenwasserstoffe erhalten, die auch wieder die violette Saponin-H_2SO_4-Reaktion gaben.

Schließlich habe ich in noch nicht veröffentlichten Unter-

---

[1]) Arch. d. Pharmazie **231**, 450, 1893.

[2]) Über Helleborein, Arch. d. Pharmazie **251**, 154 bis 183, 1913.

suchungen über das Saponin aus den Blättern einer anderen ostindischen Araliaceae, Aralia montana, dartun können, daß auch hier die krystallinischen Sapogenine bei der Zinkstaubdestillation im H_2-Strome Terpenkohlenwasserstoffe geben.

Die von mir ausgesprochene, auf experimentellen Untersuchungen fußende allgemeine Idee hat also nach mehreren Richtungen hin schon eine Bestätigung gefunden. Ich beabsichtige, in nächster Zeit alle mir zur Hand kommenden Sapogenine in dieser Richtung zu untersuchen.

Nachschrift.

Als das Manuskript schon zum Drucker befördert war, las ich eine Untersuchung Kilianis im soeben erschienenen Hefte 6/7 der „Berichte" 1916, in der er auf Seite 714 und 715 einige Bemerkungen über die von mir erhaltenen Ergebnisse macht. Weil diese fragmentarischen Bemerkungen die Untersuchungsergebnisse in verkehrtes Licht rücken könnten, möchte ich einige Worten dazu bemerken. Die Ausführungen Kilianis sind folgende:

1. Kiliani findet, daß die Zinkstaubdestillation im H_2-Strome eine zu gewaltsame Reaktion ist, um ihr eine ernstliche Beweiskraft zuzuschreiben.

2. Ich habe seine „Schlußfolgerung" vom Jahre 1893, die Digitsäure und mit ihr das Digitogenin sowie dessen sonstige Derivate stehen in naher Beziehung zu den Terpenen, auf Grund der Entwicklung eines Terpengeruches beim Erhitzen resp. Verkohlung auf dem Platinblech, und der vermeintlichen Beziehung einer abgeschiedenen Säure mit einem Destillationsprodukt aus Kampfersäure (jetzt von Kiliani nicht mehr aufrecht erhalten), übersehen.

Als mich Kiliani darauf aufmerksam machte, habe ich sofort brieflich gemeldet (26. April 1913), daß ich den Passus vom Jahre 1893 übersehen hatte; ich wiederholte das in obenstehendem Artikel.

Kiliani schrieb mir, daß er im Jahre 1893 mit aller Deutlichkeit die Zugehörigkeit des Digitogenins zu den Terpenen aussprach; jetzt wird die „Schlußfolgerung", jetzt nicht in so bestimmter Form, in den genannten Berichten wiederholt. Es erscheint mir völlig unbegreiflich, daß Kiliani „die einfache Ver-

kohlung auf Platinblech" beweiskräftig findet, während er einer Destillation im H_2-Strome ernstliche Beweiskraft abspricht. Ich kann in meinem Befund bei Digitogenin nichts anderes erblicken als eine näher definierte Bestätigung der Kilianischen Vermutung. Kiliani zitiert aus meinen Untersuchungen nur das am wenigsten studierte Digitogenin. Ich verweise aber den Leser auf die anderen Sapogenine und speziell den Verband zwischen ihnen.

Daß eine vorsichtig geführte Zinkstaubdestillation im H_2-Strome etwa gleichwertig mit einer einfachen Geruchsreaktion beim Verbrennen auf Platinblech sein soll, wie Kiliani behauptet, wird wohl keiner annehmen.

Daß die Zinkstaubdestillation im H_2-Strome als zu gewaltsam zu verurteilen sei, ist nur zum Teil richtig. Muß ich noch darauf aufmerksam machen, daß sie z. B. in der Chemie der Alkaloide, Anthrazenderivate usw. oft benutzt wird, um Kerne aufzufinden? Ich finde mich hier in guter Gesellschaft. Nirgends habe ich ihr in meinen Untersuchungen größeren Wert beigelegt (siehe oben), habe jedoch die nähere Strukturfrage dieser Kohlenwasserstoffe außer Betracht gelassen, weil ich mir sehr gut bewußt bin, daß bei der Destillation Umlagerungen auftreten können. Der aufmerksame Leser wird sofort aus meinen Untersuchungen ersehen, daß es mir darum zu tun war, verschiedene Sapogenine von einem Gesichtspunkte aus zu betrachten.

Daß jetzt der schwierigste Teil — die innere Struktur der Kerne — erst kommt, ist wohl klar, aber ich bitte doch zu überlegen, daß meine Behauptungen sich auf diesen Teil nicht erstrecken; das war auch nicht mein erster Zweck. Auf weitere Polemik werde ich mich nicht einlassen. Die Zukunft wird lehren, wie die Saponinchemie sich weiter gestalten wird. Ich bemerke, daß seither schon wieder 2 Sapogenine (siehe oben) als Terpenabkömmlinge erkannt sind.

Beiträge zur Pharmakologie der Saponine.
(Polyscias-Saponine.)

Von

A. W. van der Haar.

(Eingegangen am 6. Juni 1916.)

Untenstehende Untersuchungen, die sich an die Ergebnisse der vorangehenden Abhandlung anlehnen, machen keinen Anspruch auf allseitige Beleuchtung pharmakologischer Fragen, rücken nur einige Punkte in den Vordergrund. Sie zeigen mithin, daß es bei den meist gesellschaftlich auftretenden Saponinen, die von den Enzymen angegriffen werden, äußerst schwer, sogar nicht möglich ist, feststehende und konstante pharmakologische Daten zu erhalten, und daß bei diesen gegen Enzyme und andere Agentien labilen Glucosiden große Vorsicht am Platze ist, um richtige Schlüsse zu ziehen.

Zu diesem Studium stand mir zur Verfügung:

1. Saponin, von mir aus Blättern älterer und aus Blättern jüngerer Bäume erhalten.

2. Saponin, von W. G. Boorsma in Buitenzorg (Java), aus Blättern älterer und aus Blättern jüngerer Bäume erhalten.

3. Saponin, von W. G. Boorsma, zu einem anderen Zeitpunkt wie bei 1 und 2 in derselben Weise erhalten.

1. Versuche an Fischen.

W. G. Boorsma[1]) hat bei seiner vorläufigen Untersuchung schon darauf hingewiesen, daß das Blattsaponin dieser von Greshoff[2]) zum Fischfang benutzten Pflanze für Fische giftig ist. Er machte seine Versuche in Indien mit großen Gold-

[1]) Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin te Buitenzorg **52**, 75, 1902.
[2]) Vischvergiftrapporten **1**, 89.

fischen. Wurden diese in eine wäßrige Lösung 1:10000 gebracht, so waren sie in einer Stunde tot. Das Saponin war, gerade wie das von mir, nach seiner Methylalkoholmethode erhalten.

Diese Toxicität habe ich mit dem von mir erhaltenen Saponin nicht erreichen können.

Als ich Dr. Boorsma über diese Angelegenheit schrieb, war er so freundlich, aufs neue Saponin aus frisch getrocknetem Material zu gewinnen und mit diesem Saponin Versuche an Goldfischen zu machen. Dr. Boorsma schrieb mir folgendes: „Um mit einer Lösung des Saponins große Goldfische binnen einer Stunde zu töten, war eine Konzentration 1:4000 nötig; 1:5000 tötete erst nach mehr als 2 Stunden; 1:10000 nach vielen Stunden. Kleine Exemplare starben viel schneller; wahrscheinlich sind meine früheren Daten mit jungen Exemplaren erhalten."

Daß die Wirkung in einem Falle $\pm 2^1/_2$ mal so groß ist als im anderen Falle, kann verschiedene Gründe haben:

1. Kann ein individueller Unterschied zwischen zwei Fischen (Goldfische) zu verschiedenen Zeiten des Jahres bestehen, wobei auch Temperaturunterschied einen Einfluß ausüben kann.

Daß enorme individuelle Unterschiede zwischen zwei Exemplaren bestehen können, erwiesen mir meine Versuche an Weißfischen.

Saponin, das in Lösung 1:1000 einen Weißfisch von 6 g in einer Stunde auf dem Rücken schwimmen machte, tötete nach einem halben Jahre (16. Sept. 1909) in einer Lösung 1:1000 einen Weißfisch von 36 g schon in einer halben Stunde.

Hieraus ist ersichtlich, daß ein enormer individueller Unterschied bestand, da doch beide Fische sofort nach dem Fang in die Lösung gebracht wurden. Möglicherweise kann auch die Jahreszeit Einfluß auf die Fische ausüben.

2. Ist es sehr wohl möglich, sogar sehr wahrscheinlich, daß Saponin aus Blättern zu verschiedenen Zeiten des Jahres, sogar des Tages, verschiedene Giftigkeit besitzt.

Wenn wir die Resultate der Untersuchung der hämolytischen Wirkung vergleichen (siehe dort), so ist aus den Tabellen ersichtlich, daß Saponin aus Blättern junger oder alter Bäume wenig Unterschied in der Wirkung auf Blut zeigten.

Viel größer scheint mir aber der Unterschied in der Sammelzeit, nämlich, ob die Blätter morgens, mittags oder abends gepflückt sind.

Weil in den Blättern ein saponinspaltendes Enzym vorkommt, wie ich dargetan habe, wird die Menge und auch die Giftigkeit des Saponins zu verschiedenen Zeitpunkten des Tages wechseln. Es kann daher möglich sein, daß Blätter von einem Baume morgens früh wenig und schwach wirkendes Saponin enthalten, abends viel Saponin mit starker Wirkung.

Würden die Saponine sofort in ihre Bestandteile, hier also in Sapogenine und Zucker gespalten, so würde das noch nicht angegriffene Saponin dieselbe Giftigkeit behalten haben.

Dies ist aber nicht der Fall. Von der Spaltung mittels Säuren wissen wir bereits, daß sie in Phasen verläuft. Es kann schon eine Fehlingsche Lösung reduzierende Flüssigkeit entstehen, ohne daß sich Sapogenin abscheidet: es bleibt noch mit dem Zuckerrest verbunden. Dieselben analogen Verhältnisse sind bei der Enzymwirkung sehr plausibel und sehr wahrscheinlich.

Nicht nur ist die hämolytische Wirkung der mir zur Verfügung stehenden Saponinmengen verschieden, sondern auch ihre Wirkung auf Fische.

Eine Lösung 1 : 1000 Saponin, von Boorsma den Blättern älterer Bäume entnommen, tötete einen Weißfisch von 12 g in einer Stunde.

Ebenso das Saponin aus Blättern älterer Bäume. Ebenfalls das von mir aus Blättern älterer Bäume erhaltene.

Hieraus folgt in Verbindung mit der von Boorsma gefundenen Giftwirkung, daß die Toxicität zwischen 1 : 1000 und 1 : 10000 schwankend, in einer Stunde tötet.

Wir müssen jedoch noch berücksichtigen, daß Boorsma Goldfische in Ostindien und ich Weißfische in Holland nahm. Ich wiederholte daher die Versuche mit Goldfischen von ± 6 g. Zu meinem großen Erstaunen waren die Goldfische dem Saponin gegenüber unempfindlich. Nachdem ein Fischchen während 3 Stunden in der Lösung 1 : 1000 geschwommen hatte, blieb es ganz frisch und lebte, in frisches Wasser gebracht, noch lange. Ich benutzte also keine Goldfische mehr.

Um mehrere Vergleiche zwischen Goldfischen in Ostindien

und Weißfischen in Holland zu erhalten, sandte ich Dr. Boorsma eine kleine Menge des von mir erhaltenen Saponins (in Lösung 1 : 1000 in einer Stunde tötend), mit der Bitte, mit demselben einen Versuch an Goldfischen zu machen.

Dr. Boorsma hatte die Freundlichkeit, mir zu berichten, daß er Goldfische in einer Saponinlösung 1 : 1000 in einer Stunde tötete; er erhielt also dasselbe Resultat mit Goldfischen dort, wie ich mit Weißfischen hier.

Zu gleicher Zeit übersandte Dr. Boorsma mir eine kleine Menge seines Saponins (einer anderen Darstellung), das dort in einer Lösung 1 : 4000 Goldfische in einer Stunde tötete. Ich fand dieselbe Toxicität bei Weißfischen.

Sehr bemerkenswert war also, daß die Goldfische, die zum Versuch in Indien gedient hatten, und die Versuchsweißfische in Holland dieselbe Empfindlichkeit für Polyscias-Saponin zeigten. Wünschenswert wäre es, diese vorläufigen Versuche weiter auszudehnen.

Wenn wir also die Toxicität des Saponins an bestimmten Zeitpunkten des Tages näher erforschen wollten, würden die Versuche am lebenden Baum gemacht werden müssen. Diese Versuche sind hier leider nicht möglich, weil Polyscias nodosa in Europa nicht wächst.

Über dergleichen allgemeine Glucosidfragen sind bereits Untersuchungen erschienen, die obenstehende Meinung zum Teil bestätigen. Weevers[1]) hat das Glucosid Salicin der Weiden studiert; er kommt zu dem Schlusse, daß der Salicingehalt während der Nacht in den Blättern abnimmt und in der Rinde zunimmt; morgens enthalten die Blätter viel weniger Salicin als abends. Er bestätigte Pfeffers Hypothese, daß die esterartigen Verbindungen der Kohlenhydrate mit Phenolkörpern zur Bildung von schwer diosmierenden Verbindungen dienen, bei welcher Spaltung im allgemeinen der Phenolkörper intakt bleibt, um wieder zur Bindung von Zucker benutzt zu werden. Die Zucker sind die Transportstoffe, Salicin ist transitorischer Reservestoff.

Jowett und Potter[2]) haben dasselbe gefunden; in ihrer

---

[1]) Weevers, Dissertation Amsterdam 1902.

[2]) Chemist and Drugg. 346, 1902.

Untersuchung wurde nicht allein der Einfluß der Jahreszeit, in der gesammelt wurde, und das Geschlecht des Exemplars studiert, sondern es wurde ebenso klar, daß die Tageszeitpunkte von großem Einfluß sind.

Das steht fest, daß die Menge Glucosid zeitlich wechselt.

Obwohl obige Untersuchungen dies beweisen, haben sie sich nicht mit der Giftigkeit der Glukoside beschäftigt. Diese Untersuchungen sind in Holland schwierig auszuführen, weil wir hier noch keine stark giftigen Saponinpflanzen kennen. Wie stark das Polysciasblattemulsin auf Polysciassaponin einwirken kann, wurde mir klar, da in dem Safte aus 1,2 kg Blättern, den Dr. Boorsma mir für Oxydasenuntersuchung geschickt hatte, kein Saponin mehr vorhanden war; Bakterienwirkung war wohl auszuschließen, weil der Flascheninhalt stark nach Chloroform roch.

3. Hat sich herausgestellt, daß Polyscias-Saponin kein einheitlicher Körper ist, sondern sicher aus mindestens 2 Homologen besteht. Dies allein kann unmöglich den großen Unterschied in der Giftigkeit von 1 : 1000 und 1 : 4000, und 1 : 10 000 erklären, weil ich zeigen konnte, daß die hämolytische Wirkung der Fraktionen, in die das Saponin zerlegt war, wenig Unterschiede gab. (Siehe Tabelle: Hämolytische Versuche).

Den Fällen 1, 2 und 3 ist es hauptsächlich zuzuschreiben, daß ein großer Unterschied in der Giftigkeit gefunden wird, wobei das unter 2 Erwähnte hauptsächlich gelten kann.

Die betäubende Wirkung auf Fische besteht darin, daß die Fische nach einiger Zeit zuckende Bewegungen machen; die Bewegungen werden langsamer, und endlich schaukeln sie um ihre Längsachse; plötzlich fallen sie auf den Rücken und sind bald tot.

2. Versuche an Fröschen.

Einem Frosche von 25 g wurde in den Oberschenkel des rechten Hinterbeines 50 mg (1 : 1000 einen Weißfisch in 1 Stunde tötend) in $^1/_2$ ccm Wasser gelöst, eingespritzt; das Tier empfand nichts Besonderes und lebte am anderen Morgen noch. Nur vorübergehende Betäubung bemerkbar.

Einem anderen Frosche wurde in derselben Weise 50 mg in $^1/_2$ ccm Wasser gelöst (1 : 4000 einen Weißfisch in 1 Stunde

tötend, also 4mal so stark), eingespritzt; nach einigen Stunden war das Tier tot.

Auch hier ist ein Unterschied wahrzunehmen.

Boorsma (l. c.) fand, daß 10 mg einem 25 g wiegenden Frosche subcutan eingespritzt, in ± $1^1/_2$ Tag tötete (es war das Saponin, das in Indien einen Goldfisch in 1 Stunde tötete).

3. Hämolytische Versuche.

Polyscias-Saponin hat, wie die meisten Saponine, die Eigenschaft, rote Blutkörperchen zu lösen.

Die Versuche mit den genannten Polyscias-Saponinen wurden in Reagensgläsern gemacht mit frischem Ochsenblut, das 100-fach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt war.

Boorsma (l. c.) gibt an, daß eine Lösung des Polyscias-Saponins 1 : 5000, Blutkörperchen (1 bis 100 ccm verdünntes Blut) zu lösen vermag. Es war wieder das Saponin, das in Indien einen Goldfisch in 1 Stunde tötete.

Diese hämolytische Wirkung habe ich mit meinen Saponinen nie erreichen können, ebensowenig mit den von Dr. Boorsma übersandten Saponinen, es sei denn, daß das Blut nicht vollkommen frisch war. Das Wort „frisch“ muß hier aufgefaßt werden als sofort dem Tiere entnommen, indem die Blutkörperchen gut durcheinander gemischt und sofort 1 : 100 verdünnt werden, wie oben angegeben.

Nahm ich Blut, das einen Tag alt war, dessen Blutkörperchen aber noch völlig intakt waren, so erhielt ich Resultate, die sehr von den mit frischem Blut erhaltenen abwichen, so stark, daß kein Vergleich mehr möglich war.

Untenstehende Tabellen zeigen deutlich die hämolytische Wirkung bei frischem und weniger frischem Blut.

Frisches Ochsenblut.

Saponin in $^1/_2$ ccm der Salzlösung und gemischt mit 10 ccm des 1 : 100 mit physiol. Salzlösung verdünnten Blutes, und zwar so viel Saponin als nötig war, um eine Konzentration 1 : 10000, 1 : 5000 usw. zu erhalten.

Frisches Ochsenblut.

Saponin	1 : 10000	1 : 5000	1 : 2000	1 : 1000	1 : 500
Fraktion Ia (siehe Zusammensetzung Saponin)	in 7 Std. 21 Min. fast klar Noch 12 Std. später: klar	in 6 Std. 8 Min. fast klar Noch 12 Std. später: klar	in 6 Std. 3 Min. fast klar. Noch 12 Std. später; klar	in 10 Min. klar	in $8^1/_2$ Min. klar
Fraktion Ib (v. d. H.)	in 7 Std. nicht ganz klar Noch 12 Std. später: nicht klar	in 5 Std. 43 Min. nicht klar. Noch 12 Std. später: nicht klar	in 5 Std. nicht klar. Noch 12 Std. später: klar	in 21 Min. klar	in 8 Min. klar
Fraktion II+III (v. d. H.)	wie oben	wie oben	in 4 Std. 55 Min. klar	in 12 Min. klar	in 6 Min. klar
Fraktion IV (v. d. H.)	wie oben	wie oben	in 4 Std. 52 Min. nicht klar. Noch 12 Std. später: klar	in 81 Min. klar	in 11 Min. klar
Fraktion V (v. d. H.)	wie oben	wie oben	wie oben	in 3 Std. 42 Min. klar	in $11^1/_2$ Min. klar
Saponin (v. d. H.) junges Blatt	wie oben	wie oben	in 4 Std. 45 Min. nicht klar. Noch 12 Std. später: noch nicht klar	in 4 Std. nicht klar. Noch 12 Std. später: nicht klar	in 18 Min. klar
Saponin (Boorsma) altes Blatt	wie oben	wie oben	wie oben	wie oben	in 15 Min. klar
Saponin (Boorsma) junges Blatt	wie oben	wie oben	wie oben	wie oben	in 15 Min. klar
Saponin (Boorsma) zweite Sendung	wie oben	wie oben	in 4 Std. 46 Min. nicht klar. Noch 12 Std. später: klar	in 10,5 Min. klar	in $^1/_2$ Min. klar

Dieselben Versuche mit einen Tag altem Ochsenblut.

Saponin.	1 : 1000
Fraktion Ia (v. d. H.)	fast momentan klar
Fraktion Ib (v. d. H.)	in $^1/_2$ Minute klar
Fraktion II + III (v. d. H.)	in $^1/_2$ Minute klar
Fraktion IV (v. d. H.)	in 1 Minute klar
Saponin (v. d. H.) (junges Blatt) . . .	in 6 Minuten klar
Saponin (Boorsma) (altes Blatt) . . .	in 40 Minuten klar
Saponin (Boorsma) (junges Blatt) . .	in 28 Minuten klar
Saponin (Boorsma) (2. Sendung) . . .	fast momentan klar

Obenstehende Tabellen liefern den Beweis, welche enormen Unterschiede erhalten werden mit frischem und mit einen Tag altem Blut (die Blutkörperchen völlig intakt). Aus Tabelle I

ist ersichtlich, daß die hämolytische Kraft nicht weiter geht als 1:1000.

Zu gleicher Zeit ersehen wir bei 1:1000, daß von Fraktion I bis Fraktion V ein fast regelmäßiges Abnehmen der hämolytischen Kraft wahrzunehmen ist, also abnehmend mit abnehmender[1]) Homologie. Zweitens, daß Saponin aus Blättern zu verschiedenen Zeitpunkten gesammelt und von verschieden alten Exemplaren große Unterschiede in der hämolytischen Kraft zeigen.

Aus obigem geht auch hervor, daß große Vorsicht geboten ist, bestimmte Folgerungen über die pharmakologische Wirkung zu machen.

4. Versuche an Fischen mit Saponin, das zuvor der Wirkung von Schwefelwasserstoff ausgesetzt ist.

Koberts Bleimethode wird vielfach zur Gewinnung von Saponinen benutzt und besonders in den Fällen, wo Saponingruppen zu trennen sind.

Die gesammelten und ausgewaschenen Bleiniederschläge werden dazu in Wasser verteilt und mittels gewaschenen Schwefelwasserstoffgases vom Blei befreit.

Nun zeigte es sich aber bei Polyscias-Saponin, daß die pharmakologische Wirkung auf Fische und auf Blut durch diese Behandlung sehr abgeschwächt wird; Koberts Methode darf hier also keine Anwendung finden.

900 mg des Saponins wurden in 1 Liter Wasser gelöst. Ein Weißfisch von 36 g wurde in die Lösung gebracht. Nach 25 Minuten fing er an, sich in seiner Längsachse zu drehen und schwamm nach $^1/_2$ Stunde auf dem Rücken.

$1^1/_2$ g desselben Saponins wurde in Wasser gelöst, und in diese Lösung wurde während 1 Stunde Schwefelwasserstoff geleitet. Die Saponinlösung wurde bei niederer Temperatur zur Trockne verdampft, der Rückstand in Methylalkohol gelöst, mit Äther niedergeschlagen usw.

900 mg dieses Saponins wurden in 1 Liter Wasser gelöst und ein Weißfisch von 32 g in die Lösung gebracht.

---

[1]) Auf S. 72 des Originals steht jedoch irrtümlicherweise „steigender“.

Nach $^1/_2$ Stunde war der Fisch vollkommen normal; nach $^3/_4$ Stunden fing er an sich zu drehen.

Etwas deutlicher ist der Unterschied beim Durchleiten von H_2S während 3 Stunden. Ein Weißfisch blieb dann während 4 Stunden in der Lösung normal.

Viel deutlicher springt uns die Abnahme der hämolytischen Kraft ins Auge.

Frisches Ochsenblut wurde 1:200 in physiol. Salzlösung gelöst. Saponin wurde in dieser Lösung 1:2000 gelöst.

Nach $5^1/_2$ Minuten war die Lösung völlig klar.

In derselben Weise wurde das Saponin, das wie oben mit H_2S $1^1/_2$ Stunden behandelt und wieder abgeschieden war, verwendet.

Nach 3 Stunden und 41 Min. war die Lösung klar.

In derselben Weise wurde Boorsmas Saponin (2. Sendung) untersucht 1:2000.

Nach $1^1/_2$ Min. war die Lösung klar.

Nun wurde das Saponin während $^1/_4$ Stunde mit H_2S behandelt usw. und das erhaltene Saponin 1:2000 untersucht.

Die Lösung war in 52 Min. nicht klar, sogar noch nicht nach 12 Stunden.

Das Saponin hatte also durch die H_2S-Behandlung während 15 Min. völlig seine hämolytische Kraft verloren.

Aus obigem ersehen wir, daß die hämolytische Kraft viel schneller zugrunde geht als die gesamte giftige Wirkung. Es ist also sehr wahrscheinlich nicht nur ein Blutgift.

Wünschenswert ist es, diese Versuche auf neu zu erhaltendes Material auszudehnen und andere Saponine in dieser Richtung zu untersuchen.

Über die Wirkung des Cobragiftes auf das Lecithin.

Von

Regierungsarzt Dr. R. **Kudicke** (Daressalam) und Prof. Dr. **H. Sachs**.

(Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. Direktor: Weiland Wirkl. Geh.-Rat Prof. Dr. P. Ehrlich, Stellvertretender Direktor: Prof. Dr. H. Sachs.)

(Eingegangen am 12. Juni 1916.)

Seit den unter P. Ehrlichs Führung entstandenen Arbeiten von Kyes, die sich an diejenigen von Flexner und Noguchi sowie Calmette anschlossen, ist bekannt, daß aus dem Zusammenwirken von Cobragift und Lecithin eine neuartige hämolytische Substanz entsteht, die sich von den Eigenschaften der beiden Ausgangskomponenten scharf unterscheidet. Kyes hatte angenommen, daß es sich hierbei um ein synthetisches, unter Fettsäureabspaltung aus Cobragift und Lecithin entstandenes Kondensationsprodukt handelte, und dementsprechend das derart erhaltene stark und rasch hämolytisch wirkende Hämolysin als „Cobralecithid" bezeichnet. Die abgespaltenen Fettsäuren konnte Lüdecke quantitativ nachweisen, und im Sinne der lipolytischen Wirkung sprechen auch die Untersuchungen von Neuberg und Rosenberg über die Spaltbarkeit von Fetten, insbesondere aber des Lecithins durch Schlangengifte.

Jedoch hat schon Lüdecke, entsprechend der unter Willstätters Leitung vorgenommenen chemischen Analyse, das Cobralecithid als einen reinen, durch fermentative Einwirkung des Cobragiftes entstandenen Abkömmling des Lecithins betrachtet. Diese Auffassung erscheint heute auch auf Grund biologischer Untersuchungen, insbesondere derjenigen von v. Dungern und Coca, als die richtige, und in Übereinstimmung damit stehen sowohl von Morgenroth und Kaya mitgeteilte Befunde, wie auch insbesondere die Ergebnisse der aus dem hiesigen Institut hervorgegangenen Arbeit von Manwaring. Der Vor-

gang der Lecithidbildung ist daher als ein rein fermentativer zu betrachten, und Manwaring hat das eigenartige Ferment des Cobragiftes als „Lecithinase“ bezeichnet. Das entstehende hämolytische Endprodukt, das sogenannte Cobralecithid, ist daher auf Grund der von Lüdecke ausgeführten Elementaranalyse als Monofettsäurelecithin anzusprechen[1]).

In gutem Einklang mit dieser Auffassung der hämolytischen Cobragiftwirkung stehen die Arbeiten von Delezenne und Ledebt. Sie bildeten die Veranlassung zu den im Jahre 1912/13 ausgeführten Untersuchungen, über die wir uns im folgenden zu berichten erlauben.

Delezenne und Ledebt[2]) beschreiben die Darstellung einer hämolytischen Substanz durch das Zusammenwirken von Eidotter und Cobragift. Die Angaben hierüber stimmen im wesentlichen so vollkommen mit den von Kyes, Lüdecke, v. Dungern und Coca, Manwaring ermittelten Tatsachen überein, daß an ihrer Richtigkeit nicht zu zweifeln ist, wenn auch ein Hinweis auf die bestätigende Natur dieser Ergebnisse fehlt. Von neuartigem Interesse sind aber die Angaben der Autoren, daß Gemische von Cobragift und Pferdeserum, die nach einer gewissen Zeit des Zusammenwirkens hämolytisch werden, nach längerem Digerieren vor dem Blutzusatz ihre hämolytische Kraft wieder einbüßen. Da diese 2. Phase der Entgiftung, die nur bei Anwendung von Serum, nicht von Eidotter eintrat, von einer fast ganz aus Kalkseifen bestehenden Trübung begleitet ist, nehmen Delezenne und Ledebt als Ursache eine weitere Spaltung des zunächst entstandenen Hämolysins durch das Zusammenwirken von Cobragift mit Bestandteilen des Serums an. Sie vermuten die Beteiligung gewisser, im Serum vorhandener Kofermente, die das Cobragift bei der Abspaltung der gesättigten Fettsäuren unterstützen, und machen den Kalkgehalt des Serums

[1]) Bezüglich der Literatur über die hämolytische Wirkung des Cobragiftes, auf die wir im einzelnen nicht eingehen, sei auf die zusammenfassende Darstellung im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 2. Auflage, 2. Band (H. Sachs: Tierische Toxine und Immunitätsforschung), 1913, verwiesen. Daselbst sind auch die Ergebnisse dieser Arbeit bereits kurz mitgeteilt.

[2]) Compt. rend. **155**, 1101, 1912; vgl. auch ebenda **152**, 790, 1911 und **153**, 81, 1911.

für die Bildung unlöslicher Kalkseifen verantwortlich. Während es sich demnach in der 1. Phase der Hämolysinbildung, wie übrigens auch v. Dungern und Coca angenommen haben, wesentlich um die Abspaltung der ungesättigten Fettsäuren (Oleinsäure) handeln soll, führt nach der Auffassung von Delezenne und Ledebt die 2. Phase der Cobragiftwirkung zur Abspaltung der gesättigten Fettsäuren (Palmitin- und Stearinsäure) und damit zur Inaktivierung des hämolytischen Prinzips.

Es sei daran erinnert, daß bereits Manwaring auf Grund einiger experimenteller Erfahrungen die Möglichkeit besprochen hatte, „auch noch aus dem Monofettsäurelecithin (dem Kyesschen Lecithid) die Fettsäuregruppe abzuspalten und so zu einer hämolytisch-inaktiven Substanz zu gelangen". In Übereinstimmung damit steht die Tatsache, daß Manwaring ein von der Firma Blattmann & Co. in Wädenswil in den Handel gebrachtes und aus Eierlecithin gewonnenes, als Cholin-Glycerophosphat bezeichnetes Präparat ohne hämolytische und Cobragift aktivierende Wirkung fand.

Die Angaben von Delezenne und Ledebt waren daher im Sinne dieser bereits von Manwaring geäußerten Vermutung für uns von um so größerem Interesse. In unseren Untersuchungen, die zunächst der Nachprüfung galten, handelte es sich aber gleichzeitig darum festzustellen, ob zur entgiftenden Cobragiftwirkung wirklich das Vorhandensein von Kofermenten anzunehmen erforderlich ist, oder ob nicht vielmehr der Gehalt der Körperflüssigkeiten an Calciumsalzen hinreicht, um die 2. Phase des Vorganges einzuleiten. Schon Delezenne und Ledebt haben angegeben, daß die beteiligende Wirkung des Serums durch Dialyse des letzteren gegen physiologische Kochsalzlösung ausgeschaltet, durch Zufügen des Dialysats oder von Cerebrospinalflüssigkeit zu dem dialysierten Serum aber wieder hergestellt werden kann. Andererseits sind auch Serumdialysat oder Cerebrospinalflüssigkeit an und für sich imstande, die entgiftende Cobragiftwirkung herbeizuführen, wenn man das aus Eidotter durch Cobragift gewonnene Hämolysin (das Kyessche Lecithid) als Ausgangsmaterial benuzt. Daß die Kalksalze des Serums jedenfalls von ausschlaggebender Bedeutung sind, ergibt sich bereits aus der Angabe von Delezenne und Ledebt, daß die Phase der Entgiftung ausbleibt, wenn man den Ge-

mischen von Cobragift und Serum geeignete Dosen von Natriumcitrat oder Natriumoxalat zusetzt.

Damit war allerdings noch nicht erwiesen, ob außer den Kalksalzen besondere dialysable Kofermente für den Vorgang erforderlich sind. Um diese Frage zu entscheiden, haben wir die Körperflüssigkeiten durch ein reines Kalksalz, das Calciumchlorid, ersetzt. Wenn das Wesen der Cobragiftwirkung auf Lecithin in der Tat in einer fermentativen Lecithinspaltung besteht, so war von vornherein die Möglichkeit denkbar, daß die Kalksalze an und für sich den Prozeß zu beschleunigen und zu verstärken imstande sind. Sie erfüllen dann eben nur die Funktion einer Begünstigung der Fettsäureabspaltung durch Entfernen der freigewordenen Fettsäuren als unlösliche Kalkseifen aus dem Reaktionsgemisch, wie das nach Pekelharing u. a. für die Lipasewirkung im allgemeinen zutrifft. Es mußte dann aber nicht unwahrscheinlich erscheinen, daß die Kalksalze auch auf das erste Stadium der Hämolysinbildung nach Kyes begünstigend einwirken, wenn auch wohl auf die erheblich langsamer verlaufende Abspaltung des 2. Fettsäurerestes ein markanterer Einfluß erwartet werden konnte. Von diesem Gesichtspunkte aus haben wir den Einfluß des Chlorcalciums sowohl auf die hämolytische als auch auf die entgiftende Cobragiftwirkung untersucht.

Als Reagentien dienten demgemäß für unsere Versuche Cobragift, käufliches Lecithin und das nach dem Verfahren von Kyes-Manwaring hergestellte hämolytische Lecithid (Monofettsäurelecithin, Desoleolecithin). Das Lecithin wurde in 1%igen Stammlösungen in Methylalkohol verwendet, die mit den entsprechenden Mengen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurden.

Als Calciumsalz benutzten wir Calciumchlorid, das, wenn nicht anders vermerkt ist, in physiologischer Kochsalzlösung gelöst wurde. — Zu Versuchen, in denen wir die physiologische Kochsalzlösung vollständig durch physiologische Calciumchloridlösung ersetzten, bestimmten wir zuvor im Reihenversuch den der 0,85%igen Kochsalzlösung entsprechenden physiologischen Salzgehalt. Er betrug für das eine von uns verwendete Präparat 1,4%, für das andere 2,2%.

Als Blut gelangten 5- bis 8%ige serumfreie Aufschwemmungen zur Verwendung. Das Volumen betrug in den hämolytischen Versuchen 2 bis 2,3 ccm. Der Grad der Hämolyse ist, wie üblich, nach der Skala: komplett, fast komplett, stark, mäßig, wenig, Spur, Spürchen, Null, abgeschätzt.

Über den Einfluß des Calciumchlorids auf die Cobragifthämolyse.

Den Erwartungen entsprechend, ließ sich ein begünstigender Einfluß des Calciumsalzes auf die Cobragifthämolyse leicht demonstrieren.

Absteigende Mengen von Cobragift wurden in 2 Parallelreihen mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung und je 0,1 ccm 0,1 %iger Lecithinlösung digeriert unter Zusatz von:

in Reihe a): je 0,2 ccm 0,1 %iger Calciumchloridlösung,
in Reihe b): je 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Das Ergebnis, das nach 1stündigem Aufenthalt im Brutschrank und am nächsen Tage notiert wurde, zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Mengen des Cobragiftes	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Cobragift und je 0,1 ccm 0,1 % Lecithin unter Zusatz von			
1 %	a) 0,2 ccm 0,1 % $CaCl_2$		b) 0,2 ccm 0,85 % NaCl	
ccm	nach 1 h	nach 20 h	nach 1 h	nach 20 h
0,01	komplett	komplett	komplett	komplett
0,005	"	"	mäßig	"
0,0025	"	"	Spur	"
0,0015	fast komplett	"	0	mäßig
0,001	mäßig	"	0	wenig
0,0005	Spur	"	0	0
0,00025	0	wenig	0	0
0,00015	0	"	0	0
0	0	0	0	0

Die Tabelle zeigt, daß die Gegenwart recht geringer Mengen von Chlorcalcium die Hämolyse durch Cobragift und Lecithin nicht nur zu beschleunigen, sondern auch zu verstärken imstande ist. In dem vorliegenden Versuchsbeispiel wurde durch den Einfluß des Chlorcalciums die zur vollständigen Hämolyse erforderliche Cobragiftmenge auf den 5. Teil reduziert. Ebenso hat sich ergeben, daß auch die zur Aktivierung des Cobragiftes ausreichenden Lecithinmengen bei Gegenwart von Chlorcalcium geringer werden. Wir lassen auch hierfür ein Versuchsbeispiel folgen, das zugleich für den beschleunigenden Einfluß der Kalksalze charakteristisch ist (siehe Tabelle II).

Nachdem derart der verstärkende Einfluß des Chlorcalciums auf die durch das Zusammenwirken von Cobragift und Lecithin verursachte Hämolyse festgestellt war, galten weitere Versuche der Frage, ob sich ein gleichsinniger Einfluß

Tabelle II.

Mengen der 0,1 % Lecithin-lösung ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Lecithinmengen und je 0,1 ccm $^1/_{100}$ % Cobragift unter Zusatz von			
	a) 0,2 ccm 0,1 % $CaCl_2$		b) 0,2 ccm 0,85 % NaCl	
	nach 1^h	nach 24^h	nach 1^h	nach 24^h
1,0	komplett	komplett	Spur	komplett
0,5	"	"	0	"
0,25	"	"	0	"
0,15	fast komplett	"	0	"
0,1	wenig	"	0	"
0,05	0	fast komplett	0	Spur
0,025	0	Spürchen	0	0
0	0	0	0	0

auch bei der Hämolyse durch Cobragift allein, d. h. von solchen Blutarten, die, wie Meerschweinchen- und Kaninchenblut, dem Cobragift gegenüber auch ohne Lecithinzusatz in physiologischer Kochsalzlösung empfindlich sind, geltend macht. Wir gingen dabei zunächst in folgender Weise vor:

Absteigende Mengen 2,2 %iger Chlorcalciumlösung (mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und auf 1 ccm aufgefüllt) wurden mit je 0,1 ccm $^1/_{20}$ %igen Cobragiftes und je 1 ccm Meerschweinchenblut digeriert. Das nach 8, 12, 30 Minuten und am nächsten Tage abgelesene Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Mengen der 2,2 % $CaCl_2$-Lösung ccm	Hämolyse v. Meerschweinchenblut durch 0,1 ccm $^1/_{20}$ % Cobragiftes unter Zusatz absteigender Mengen Calciumchloridlösung nach			
	8′	12′	30′	24^h
1,0	0	0	0	Spürchen
0,5	0	0	0	mäßig
0,25	0	0	0	komplett
0,15	0	0	wenig	"
0,1	0	0	mäßig	"
0,05	Spur	mäßig	komplett	"
0,025	wenig	komplett	"	"
0,015	mäßig	"	"	"
0,01	komplett	"	"	"
0,005	wenig	"	"	"
0,0025	"	"	"	"
0,0015	Spur	fast komplett	"	"
0,001	0	wenig	"	"
0	0	0	"	"

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die **Hämolyse des Meerschweinchenblutes durch Cobragift bei Gegen-**

wart mittlerer Mengen von Chlorcalcium eine erhebliche Beschleunigung erfährt, daß jedoch größere Mengen des Calciumsalzes die Hämolyse nicht unerheblich zu hemmen vermögen. Das letztere Ergebnis steht in Übereinstimmung mit Angaben von Noguchi und Bang, und man kann zur Erklärung hierfür mit Bang wohl annehmen, daß das Calciumchlorid die Aufnahme des Cobragiftes durch die roten Blutkörperchen verhindert. Keineswegs darf man aber, wie der Versuch zeigt, dem Calciumchlorid allgemein einen hemmenden Einfluß auf die Cobragifthämolyse zuschreiben. Es kommt nur auf die quantitativen Verhältnisse an, und man dürfte nicht fehlgehen in der Annahme, daß geringe Mengen des Calciumsalzes durch die Blutkörperchen aufgenommen werden und zu einer Verstärkung der intracellulären Cobragiftwirkung im Sinne von Kyes und Sachs führen, während stärkere Calciumkonzentrationen eben die Aufnahme des Cobragiftes durch die roten Blutkörperchen und damit die Vorbedingung der Hämolyse verhindern.

Der Einfluß der Kalksalze auf die direkte Cobragiftwirkung äußert sich übrigens auch in einer Verstärkung der Hämolyse, indem unter dem Einfluß des Calciumchlorids geringere Mengen Cobragiftes zur Hämolyse ausreichen. Man muß dabei natürlich einen Überschuß von Calciumchlorid vermeiden, und es ist nach dem bereits mitgeteilten Versuchsergebnis ohne weiteres verständlich, daß die Hämolyse vollständig ausbleibt, wenn man als Medium physiologische Calciumchloridlösung anstatt physiologischer Kochsalzlösung benutzt. Folgendes Versuchsbeispiel wird diese Verhältnisse illustrieren.

Absteigende Mengen von Cobragift werden:
in Reihe a: in physiologischer Kochsalzlösung,
„ „ b: in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,2 ccm 0,22 %iger Calciumchloridlösung,
„ „ c: in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von je 0,1 ccm 0,22 %iger Calciumchloridlösung,
„ „ d: in physiologischer (2,2 %iger) Calciumchloridlösung (ohne NaCl) mit je 1 ccm Meerschweinchenblut digeriert.

Das Meerschweinchenblut ist in den Reihen a—c in isotonischer Kochsalzlösung, in Reihe d in isotonischer Calciumchloridlösung aufgeschwemmt.

Das nach 24 Stunden abgelesene Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Die Tabelle zeigt, daß geeignete Mengen des Calcium-

Tabelle IV.

Mengen des 1 % Cobragiftes ccm	Hämolyse von Meerschweinchenblut durch absteigende Mengen Cobragiftes			
	in isotonischer NaCl-Lösung			d) in isotonischer $CaCl_2$-Lösung
	a) allein	b) + 0,2 ccm 0,22 % $CaCl_2$	c) + 0,1 ccm 0,22 % $CaCl_2$	
0,1	komplett	komplett	komplett	0
0,01	"	"	"	0
0,001	"	"	"	0
0,0005	"	"	"	0
0,00025	fast komplett	fast komplett	"	0
0,00015	mäßig	stark	"	0
0,0001	Spürchen	mäßig	fast komplett	0
0	0	0	0	0

salzes die Hämolyse durch Cobragift deutlich zu verstärken imstande sind, und zwar geringere Mengen von Calciumchlorid in stärkerem Maße als größere. Dagegen bleibt bei einem Ersatz der physiologischen Kochsalzlösung durch die physiologische Calciumchloridlösung die Hämolyse völlig aus. Hierdurch erklären sich augenscheinlich scheinbar widersprechende Angaben der Literatur (vergl. Noguchi, v. Dungern und Coca, Bang). Man wird mit Bang annehmen dürfen, daß Calciumchlorid die Aufnahme des Cobragiftes durch die Blutkörperchen und damit dessen Wirkung hindern kann, wird aber zu berücksichtigen haben, daß diese Funktion wesentlich von der Konzentration des Salzes abhängig ist, und daß bei einem hinreichend geringen Gehalt an Calciumchlorid und Herstellung der Isotonie durch Natriumchlorid umgekehrt eine Beschleunigung und Verstärkung der Cobrahämolyse eintritt, wie es unsere Versuche dartun. Mit Kaninchenblut haben wir entsprechende Ergebnisse, wenn auch nicht in so ausgesprochenem Grade erhalten.

Eine Empfindlichkeit an und für sich dem Cobragift gegenüber resistender Blutarten, wie des Hammelblutes, durch einfachen Calciumchloridzusatz zu bewirken, ist uns nicht möglich gewesen. Bei der Hämolyse von Hammelblut in isotonischer Rohrzuckerlösung, welche die Hämolyse dieser Blutart durch Cobragift ohne Lecithinzusatz ermöglicht, haben wir in Übereinstimmung mit Bang eine stärkere Hemmung durch Calciumchlorid als durch Kochsalzlösung beobachtet. Es dürfte dies

dem Umstand entsprechen, daß bei solchen Blutkörperchen, die das Cobragift schwerer, bzw. nur in elektrolytfreier Lösung aufzunehmen vermögen, sich eben lediglich die hemmende Funktion des Calciumchlorids geltend macht. Auch das spricht dafür, daß die begünstigende Wirkung des Calciumchlorids auf die Hämolyse des Meerschweinchen- und Kaninchenbluts nicht etwa einem Einfluß auf die Aufnahme des Cobragiftes zu verdanken ist, vielmehr nur der Begünstigung der zur Hämolyse führenden fermentativen Cobragiftwirkung, wie das auch für die Hämolyse durch Cobragift und Lecithin zutrifft.

Allerdings lauten auch die Angaben über den Einfluß der Calciumsalze auf die Hämolyse durch Cobragift und Lecithin nicht einheitlich. Nach Noguchi ist Calciumchlorid hierbei ohne Einfluß. v. Dungern und Coca beobachteten in Calciumchloridlösung geringere Hämolyse durch Cobragift und Lecithin als in physiologischer Kochsalzlösung, und Bang fand unter gewissen Umständen eine befördernde Wirkung des Calciumchlorids, konnte aber andererseits bei geringen Lecithinmengen eine größere Hemmung der Hämolyse durch Calciumchlorid als durch Natriumchlorid konstatieren.

Unsere eigenen Versuche haben, wie die Tabellen 1 und 2 zeigen, einen beschleunigenden und verstärkenden Einfluß geringer Calciumchloridmengen auf die Hämolyse durch Cobragift und Lecithin ergeben.

Nicht ganz leicht zu übersehen sind, abgesehen von individuellen Schwankungen im Verhalten des Blutes, die Bedingungen, wenn man als Verdünnungsmedium die physiologische Kochsalzlösung überhaupt durch physiologische Calciumchloridlösung ersetzt. Hier zeigt sich zwar in der Regel ein verstärkender Einfluß des Calciumchlorids. Jedoch kann man bei zeitlichem Verfolg des Hämolyseverlaufs gelegentlich feststellen, daß am Anfang die Hämolyse durch größere Cobragiftmengen in Kochsalzlösung stärker ist als in Calciumchloridlösung, während sich im Endergebnis das umgekehrte Resultat zeigt.

Absteigende Mengen Cobragiftes werden in zwei Parallelreihen mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung und je 0,15 ccm 0,2%iger Lecithinlösung digeriert.

In Reihe A wird als Verdünnungsflüssigkeit und für die Aufschwemmung der Blutkörperchen physiologische Kochsalzlösung,

in Reihe B physiologische Calciumchloridlösung benutzt. Das Ergebnis nach 8 Minuten und am folgenden Tage zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Mengen des 1 %igen Cobragiftes ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Mengen Cobragiftes und je 0,15 ccm 0,2 %iger Lecithinlösung			
	a) in NaCl		b) in $CaCl_2$	
	nach 8′	nach 24^h	nach 8′	nach 24^h
0,1	komplett	komplett	fast komplett	komplett
0,05	"	"	stark	"
0,025	"	"	"	"
0,015	"	"	mäßig	"
0,01	fast komplett	"	"	"
0,005	mäßig	"	wenig	"
0,0025	0	"	"	"
0,0001	0	"	0	"
0,00005	0	wenig	0	"
0,000025	0	"	0	"
0,000015	0	Spur	0	fast komplett
0,00001	0	Spürchen	0	stark
0	0	0	0	0

Die Tabelle zeigt, daß zwar in Calciumchloridlösung schließlich noch geringere Mengen Cobragiftes zur vollständigen Hämolyse führen, daß jedoch nach kurzer Zeit durch größere Cobragiftdosen die Hämolyse in Kochsalzlösung schneller ein Maximum erreicht als in Calciumchloridlösung. Zur Erklärung hierfür könnte man annehmen, daß unter dem Einfluß des Calciumchlorids und großer Cobragiftdosen die fermentative Cobragiftwirkung so rasch über das hämolytische Produkt hinaus fortschreitet, daß nach kurzer Zeit noch nicht oder nicht mehr zur vollständigen Hämolyse hinreichende Hämolysinmengen zur Verfügung stehen. Zu erwägen wäre aber auch die Möglichkeit, daß es sich unter dem Einfluß großer Cobragiftdosen um die Kombination zweier Vorgänge handelt, einmal um extracelluläre Hämolysinbildung durch fermentative Lecithinspaltung, dann aber um eine Cobragiftaufnahme durch die Blutkörperchen unter dem Einfluß der Lecithingegenwart im Sinne von Bang, also um intracelluläre Hämolysinbildung. Für den letzteren Mechanismus dürfte aber die Gegenwart der Kalksalze in hinreichend starker Konzentration ein Hemmnis bedeuten, und so wäre es verständlich, daß durch größere Cobragiftdosen die Hämolyse in physiologischer Kochsalzlösung rascher eintritt, als in physiologischer Calciumchloridlösung. Dem entspricht es auch,

daß bei Verwendung geringerer Lecithinmengen das Endergebnis sich umkehrt, indem dann die Hämolyse in Calciumchloridlösung dauernd hinter derjenigen in physiologischer Kochsalzlösung zurückbleiben kann, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Absteigende Mengen Cobragiftes werden in drei Doppelparallelreihen mit je 1 ccm Hammblutaufschwemmung unter Zusatz von

A. je 0,2 ccm 0,05 %igen Lecithins
B. „ 0,2 „ 0,02 %igen „
C. „ 0,2 „ 0,01 %igen „

digeriert.

In den Reihen I. (A—C) dient isotonische Kochsalzlösung, in den Reihen II. (A—C) isotonische Calciumchloridlösung als Verdünnungsmedium.

Das am nächsten Tag abgelesene Ergebnis zeigt Tabelle VI.

Tabelle VI.

Mengen des 0,01 %igen Cobragiftes ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Cobragiftmengen + Lecithin					
	I. in NaCl + je 0,2 ccm Lecithin			II. in $CaCl_2$ + je 0,2 ccm Lecithin		
	A 0,05 %	B 0,02 %	C 0,01 %	A 0,05 %	B 0,02 %	C 0,01 %
1,0	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	wenig
0,5	„	„	„	„	„	Spur
0,25	„	„	wenig	„	„	Spürchen
0,15	„	„	Spur	„	„	0
0,1	„	wenig	0	„	„	0
0,05	„	Spur	0	„	stark	0
0,025	„	0	0	„	mäßig	0
0,015	fast komp.	0	0	„	wenig	0
0,01	wenig	0	0	„	„	0
0,005	0	0	0	stark	Spur	0
0,0025	0	0	0	mäßig	Spürchen	0
0	0	0	0	0	0	0

Aus der Tabelle ergibt sich, daß bei kleinen Lecithinmengen die Hämolyse durch Cobragift und Lecithin in Calciumchloridlösung geringer ist als in Kochsalzlösung. Es entspricht dies den Angaben Bangs. Auch kann man bei kleinen Lecithinmengen, wie das ja nicht anders zu erwarten ist, sowohl in Kochsalzlösung als auch in Calciumchloridlösung eine Hemmung gegenüber der Hämolyse in Rohrzuckerlösung eintreten sehen, und eben stärker in Calciumchloridlösung als in Kochsalzlösung.

Man wird bei der Hämolyse durch Cobragift und Lecithin

demnach eine Reihe von Faktoren für das Zustandekommen des Ergebnisses verantwortlich zu machen haben, einmal die extracelluläre Lecithinspaltung, dann aber auch die Begünstigung der intracellulären Cobragiftspeicherung durch die Anwesenheit des Lecithins im Sinne Bangs, wie auch durch dessen Spaltprodukte, insbesondere die Fettsäuren und ihre Salze. Die aktivierende Wirkung der Ölsäure und des ölsauren Natriums ist ja schon durch die Untersuchungen von Kyes und Sachs bewiesen, und es dürfte in diesem Sinne nicht ohne Interesse sein, daß wir in Rohrzuckerlösung wesentlich geringere Seifenmengen (oleinsaures Natrium) für die Hämolyse durch Cobragift ausreichen sahen, als in physiologischer Kochsalzlösung, obwohl, wie wir gleichzeitig feststellen konnten, die Seifenhämolyse (ohne Cobragift) in Rohrzuckerlösung schwächer ist als in physiologischer Kochsalzlösung. Wenn die Funktion der Seifen nur darin besteht, die intracelluläre Aufnahme des Cobragiftes zu befördern, so ist es selbstverständlich, daß dies in Rohrzuckerlösung leichter geschieht als in Kochsalzlösung, die ja, wie bekannt, im Sinne einer Hemmung der Cobragiftaufnahme wirkt.

Die befördernde Wirkung der Fettsäuren und Seifen auf die Cobragifthämolyse darf man nicht außer acht lassen, wenn man die zweite Phase der Cobragiftwirkung, die Spaltung des hämolytischen Reaktionsprodukts, verfolgt.

Über die Wirkung des Cobragifts auf das hämolytische „Lecithid“.

Bevor wir unsere Untersuchungen über die Einwirkung des Cobragifts auf das aus dem Zusammenwirken von Cobragift und Lecithin entstandene Spaltungsprodukt, das Lecithid, mitteilen, müssen wir zunächst Angaben von Kyes über die Stabilität des Lecithids gegenüber thermischen Eingriffen berichtigen. Nach Kyes ist nämlich das Lecithid koktostabil. Es hat sich uns aber gezeigt, daß dies nur insoweit zutrifft, als relativ konzentrierte (1 %ige) wäßrige Lösungen des Präparates gekocht werden. Je mehr man die Lösungen verdünnt, in um so höherem Grade erweist sich das wirksame Prinzip koktolabil, wie der folgende Versuch zeigt:

Proben von:

a) 1 %iger Lecithidlösung,
b) 0,1 %iger „
c) 0,05 %iger „
d) 0,025 %iger „

in physiologischer Kochsalzlösung werden 1/2 Stunde im Wasserbade auf 100° erhitzt.

Sodann werden absteigende Mengen der a) 40fach, b) 4fach, c) 2fach verdünnten und d) unverdünnten Lösung mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung (Volumen 2,0) digeriert. Zur Kontrolle werden in Reihe e) absteigende Mengen 40fach verdünnter, nicht erhitzter 1 %iger Lecithidlösung mit Hammelblut gemischt. Das Ergebnis zeigt Tabelle VII.

Tabelle VII.

Mengen der 1/40 %igen Lecithidlösung ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Lecithidmengen nach vorherigem Erhitzen in				
	a) 1 %iger Lösung	b) 0,1 %iger Lösung	c) 0,05 %iger Lösung	d) 0,025 %iger Lösung	e) unerhitzt
1,0	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,5	„	„	„	„	„
0,25	„	„	fast kompl.	mäßig	„
0,15	„	Spur	0	0	„
0,1	wenig	0	0	0	wenig
0	0	0	0	0	0

Die Tatsache, daß verdünnte Lecithidlösungen durch Erhitzen ihre hämolytische Wirksamkeit verlieren, ist wichtig für die Beurteilung solcher Versuche, in denen man nach dem Digerieren von Cobragift und Lecithin sich durch Aufkochen der Mischungen von der Menge des gebildeten Hämolysins überzeugen will. Arbeitet man in Reihenversuchen, also mit verdünnten Lösungen, so wird man sicherlich hierbei nicht die wirkliche Menge des gebildeten Lecithids durch die hämolytische Reaktion nachweisen können. Außerdem wird man nur die sofort eintretende Hämolyse berücksichtigen dürfen, da auch bei einer Zerstörung des Lecithids durch die relative Stabilität des Cobragifts, zumal bei saurer Reaktion, Gelegenheit zu neuer Wirkung gegeben ist, sei es durch Lecithinspaltung, sei es durch die Interferenz der im Reaktionsgemisch befindlichen Spaltungsprodukte und sonstigen Lipoide (Fettsäuren und Seifen).

Worauf die Koktolabilität des hämolytischen Lecithids (des

Monofettsäurelecithins) beruht, haben wir nicht näher untersucht. Die Möglichkeit dürfte aber nicht ausgeschlossen sein, daß schon hierbei eine Abspaltung von Fettsäuren zustande kommt. Dem würde es entsprechen, daß die Koktolabilität durch die Gegenwart von Chlorcalcium verstärkt wird, d. h. bereits in stärkeren Lecithidkonzentrationen zum Ausdruck kommt, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt:

Absteigende Mengen 0,1 %iger Cobra-Lecithidlösung werden in den Reihen a und b mit je 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung, in den Reihen c und d mit je 0,2 ccm $^1/_{10}$ %iger Calciumchloridlösung digeriert. Die Reihen b und d werden 1 Stunde im Wasserbad auf 100° erwärmt, sodann erfolgt überall Zusatz von 1 ccm Hammelblutaufschwemmung. Das kurz nach dem Blutzusatz notierte Ergebnis zeigt Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Mengen der Lecithidlösungen (0,1 %) ccm	Hämolyse von Hammelblut durch absteigende Lecithidmengen unter Zusatz von			
	je 0,2 ccm, 0,85 % NaCl		je 0,2 ccm, 0,1 % $CaCl_2$	
	a) unerhitzt	b) erhitzt	c) unerhitzt	d) erhitzt
1,0	komplett	komplett	komplett	mäßig
0,5	"	"	"	Spur
0,25	"	"	"	0
0,15	"	Spur	"	0
0,1	"	0	"	0
0,05	"	0	"	0
0,025	Spürchen	0	Spürchen	0
0	0	0	0	0

Während also durch das Kochen in Natriumchloridlösung die hämolytische Wirkung um das 5fache abgeschwächt erscheint, hat sie beim Kochen unter Calciumchloridzusatz mehr als das 20fache ihrer ursprünglichen Giftigkeit verloren.

Im Sinne einer Inaktivierung durch Fettsäureabspaltung sprechen nun die von Delezenne und Ledebt berichteten Ergebnisse. Unsere eigenen Versuche stellen insofern eine wichtige Erweiterung dar, als sie zeigen, daß unter Verwendung des isolierten und reinen Lecithidpräparats das Cobragift an und für sich bereits hinreicht, um zu einer Aufhebung der hämolytischen Lecithidwirkung zu führen. Allerdings ist eine längere Einwirkungsdauer dazu erforderlich.

Je 0,2 ccm $^1/_{40}$ %iger Lecithidlösung werden:

in der Reihe a mit absteigenden Mengen $^1/_{10}$%igen Cobragiftes,
in der Reihe b mit absteigenden Mengen einer zuvor $^1/_2$ Stunde lang auf 100° erhitzten, $^1/_{10}$%igen Cobragiftlösung
20 Stunden im Brutschrank (37°) digeriert. Sodann erfolgt Zusatz von je 1 ccm Hammelblut.

Daß nach 5 Minuten (α) und am nächsten Tage (β) notierte Ergebnis zeigt Tabelle IX.

Tabelle IX.

Mengen des 1%igen Cobragiftes ccm	Hämolyse von Hammelblut durch vorher digerierte Gemische von je 0,2 ccm $^1/_{40}$%iger Lecithidlösung und absteigenden Mengen Cobragiftes			
	a) natives Cobragift		b) 100°-Cobragift	
	α	β	α	β
0,1	0	Spur	fast komplett	komplett
0,05	0	fast komplett	komplett	„
0,025	0	komplett	„	„
0,015	Spur	„	„	„
0,01	wenig	„	„	„
0.005	mäßig	„	„	„
0,0025	„	„	„	„
0,0015	stark	„	„	„
0	komplett	„	„	„

Wie die Tabelle zeigt, wird durch größere Mengen von Cobragift eine vollständige Inaktivierung des Lecithids erzeugt. Daß es sich in der Tat um die Wirkung einer labilen Funktion des Cobragifts handelt, ergibt sich aus Reihe b der Tabelle, in der das Cobragift $^1/_2$ Stunde auf 100° erhitzt war und dadurch die inaktivierende Wirkung verloren hatte. Zugleich zeigt die Tabelle, daß sich der wirkliche Grad der inaktivierenden Wirkung des Cobragiftes auf das Lecithid nur bei sofortiger oder verhältnismäßig kurzfristiger Beobachtung geltend macht. Wenn späterhin trotzdem Hämolyse eintritt, so kann sich das dadurch erklären, daß die durch Cobragiftwirkung aus dem Lecithid abgespaltenen Fettsäuren bzw. ihre Salze ihrerseits die hämolytische Wirkung des Cobragiftes zu vermitteln in der Lage sind. Da das hämolytische Lecithid, wie Kyes gezeigt hat, ohne Inkubationszeit wirkt, so dürfte die sofortige Ablesung des Versuchsergebnisses nach dem Zufügen des Blutes für die Beurteilung der Lecithidinaktivierung allein maßgebend sein[1]).

[1]) Dem entspricht es auch, daß nach Zusatz von Blut zu längere Zeit (24 Stunden) digerierten Gemischen von absteigenden Cobragift-

Es ist andererseits ohne weiteres verständlich, daß bei Zusatz von Calciumchlorid das Versuchsergebnis insofern noch eindeutiger ist, als eine Nachlösung durch das hämolytische Prinzip des Cobragiftes nicht mehr wesentlich stattfindet, indem durch die Calciumsalze einerseits die Gelegenheit zur Bildung unlöslicher Kalkseifen gegeben ist, andererseits ein hemmender Einfluß auf die hämolytische Cobragiftwirkung ausgeübt wird. Aber auch der direkte inaktivierende Einfluß des Cobragiftes auf das Lecithid wird durch Kalksalze verstärkt, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Absteigende Mengen 0,1 %iger Cobragiftlösung werden mit je 0,2 ccm $^{1}/_{20}$ % der Lecithidlösung unter Zusatz von

A. je 0,2 ccm physiologischer Kochsalzlösung,

B. je 0,2 ccm 0,1 %iger Calciumchloridlösung

zwei Tage lang bei 37° digeriert.

Sodann erfolgt Zusatz von je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung. Das nach 2 Minuten (α) sowie am nächsten Tage (β) notierte Versuchsergebnis enthält Tabelle X.

Tabelle X.

Mengen des Cobragiftes (1 %) ccm	Hämolyse von Hammelblut durch je 0,2 ccm $^{1}/_{20}$ %iger Lecithidlösung nach Digerieren mit absteigenden Mengen Cobragift unter Zusatz von			
	a) 0,2 ccm 0,85 % NaCl		b) 0,2 ccm 0,1 % $CaCl_2$	
	α	β	α	β
0,1	0	Spur	0	0
0,05	0	wenig	0	0
0,025	0	komplett	0	0
0,015	0	„	0	0
0,01	mäßig	„	0	0
0,005	„	„	0	wenig
0,0025	stark	„	0	mäßig
0,0015	komplett	„	Spürchen	stark
0,001	„	„	Spur	komplett
0	„	„	komplett	„

Wie der Versuch zeigt, *reichen unter dem Einfluß geringer Mengen des Calciumsalzes bereits erheblich geringere Mengen des Cobragiftes zur Inaktivierung*

---

mengen und einer geeigneten Lecithindosis die Hämolyse bei mittleren Cobragiftmengen beginnt. Sie wird dann, zumal wenn man die Gemische vor dem Blutzusatz kocht, bei einem Cobragiftüberschuß nicht vollständig, während bei sofortigem Blutzusatz unter sonst gleichen Bedingungen die Schnelligkeit der Hämolyse den Giftdosen im allgemeinen proportional ist.

des Lecithids aus als in reiner physiologischer Kochsalzlösung. Ganz besonders macht sich dieser Unterschied nach längerer Beobachtungsfrist bemerkbar, indem hierbei ohne Kochsalzlösung weit stärkere sekundäre Cobragifthämolyse eintritt als bei Calciumchloridzusatz.

Der Vorgang der Lecithidinaktivierung bedarf bei 37° längerer Zeit. Jedenfalls ist er nach 1- bis 2stündigem Aufenthalt nur angedeutet, dagegen nach Digerieren der Gemische über Nacht im Brutschrank immer deutlich gewesen. Jedoch tritt bereits bei 1stündigem Erwärmen auf 60° durch größere Mengen Cobragift, und verstärkt unter dem Einfluß von Chlorcalcium eine deutliche Einwirkung auf das Lecithid im Sinne einer Inaktivierung der hämolytischen Wirkung ein.

Zusammenfassung.

Die mitgeteilten Versuche zeigen, daß Calciumchlorid unter geeigneten Bedingungen die Hämolyse dem Cobragift gegenüber empfindlicher Blutarten zu beschleunigen und zu verstärken imstande ist. Ebenso äußert sich der Einfluß des Calciumchlorids auf die Hämolyse durch Cobragift und Lecithin. Im Sinne der von Kyes, Lüdecke, von Dungern und Coca, Manwaring ermittelten Auffassung der hämolytischen Cobragiftwirkung dürfte daher die Annahme nahe liegen, daß durch die Gegenwart von Kalksalzen die zum hämolytischen Produkt führende, durch das Cobragift bedingte, fermentative Fettsäureabspaltung aus dem Lecithid eine nicht unerhebliche Begünstigung erfährt. Inwieweit dabei die Wirkung des Calciumchlorids intracellulär und extracellulär mitspielt, soll dahingestellt bleiben. Jedenfalls wird man eine intracelluläre Mitwirkung (Permeabilität durch den Einfluß des Cobragiftes im Sinne Bangs?) schon deshalb nicht ausschließen können, weil auch ohne Lecithinzusatz eine Beschleunigung bzw. Verstärkung der Cobragiftwirkung durch Calciumchlorid bei an und für sich empfindlichen Blutkörperchen zu beobachten ist.

Andererseits wird aber die Hämolyse unempfindlicher Blutarten durch Cobragift in Rohrzuckerlösung durch Calciumchlorid in höherem Maße gehemmt als durch Kochsalzlösung. Übrigens wird auch die Hämolyse durch das Zusammenwirken von Cobragift und Lecithin in Rohrzuckerlösung durch Calciumchlorid ge-

hemmt[1]), während die Hämolyse bei gleichem Calciumchloridgehalt sowohl in Rohrzucker- als auch in Kochsalzlösung stärker ist, als in reiner Kochsalzlösung. Bei geringem Lecithingehalt kann jedoch der Zusatz von Calciumchlorid eine Hemmung verursachen. Die verschiedenartigen Bedingungen dürften verständlich sein, wenn man unter Berücksichtigung der von Bang ermittelten Tatsachen zugleich die Rolle bedenkt, die das Lecithin als Vermittler der Cobragiftaufnahme durch die roten Blutkörperchen spielen kann. Zur Erklärung der von den Kalksalzen ausgeübten Funktion im allgemeinen aber dürfte es genügen, eine Begünstigung der fermentativen Fettsäureabspaltung durch die Bildung unlöslicher Seifen anzunehmen.

Bei der Analyse der zweiten Phase des Vorganges, der Entgiftung des hämolytischen Lecithids, ergab sich, daß verdünnte Lecithidlösungen bereits an und für sich eine Labilität besitzen. Sie werden durch $^1/_2$- bis 1stündiges Erhitzen auf 100° inaktiviert und können sogar bei hinreichendem Grade der Verdünnung auch bei 37° an hämolytischer Wirkung einbüßen. Der Vorgang wird aber durch Cobragift außerordentlich beschleunigt und verstärkt, und zwar in noch höherem Grade, wenn gleichzeitig Calciumchlorid zugegen ist. Ob bei der Gegenwart von Körperflüssigkeiten neben den Kalksalzen noch nach Art von Kofermenten wirkende Stoffe eine Rolle spielen, müssen wir dahingestellt sein lassen.

Die Versuche sprechen jedenfalls in Übereinstimmung mit Delezenne und Ledebt in dem Sinne, **daß die fermentative Fettsäureabspaltung aus dem Lecithin durch das Cobragift über eine stark hämolytische Zwischenstufe (das Kyessche Lecithid) schließlich zu einem hämolytisch unwirksamen Endprodukt führt, und daß beide Phasen des fermentativen Vorganges, besonders aber die letztere, durch die Gegenwart von Kalksalzen (Calciumchlorid) begünstigt werden.**

---

[1]) Zuweilen fanden wir die Hämolyse durch Cobragift und Lecithin in Calciumchloridlösung stärker als in Rohrzuckerlösung. Hierbei sind augenscheinlich individuelle Verschiedenheiten der Blutbeschaffenheit von Bedeutung.

Der Suprareningehalt handelsüblicher Suprareninpräparate und die Art seiner Feststellung.

Von

Fritz Johannessohn.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 17. Juni 1916.)

Embden und v. Fürth[1]) fanden gelegentlich ihrer Untersuchungen über die Zerstörung des Suprarenins im Organismus, daß nicht nur Blut, sondern auch eine der Blutalkalescenz an Stärke entsprechende reine Sodalösung das Suprarenin in nicht zu langer Zeit derartig verändert, daß es weder chemisch noch biologisch nachgewiesen werden kann. Auch Kretschmer[2]) macht die Alkalescenz von Blut und Gewebe für die Zerstörung des Suprarenins im Organismus verantwortlich. Er konnte nachweisen, daß die Suprareninwirkung viel länger anhält, wenn man den Alkalescenzgrad der Körperflüssigkeiten herabsetzt, was sich beim Kaninchen nach den Untersuchungen von Walter durch Mineralsäureninfusion leicht und ohne sonstige Schädigung des Tieres bewirken läßt.

Es lag daher nahe, als man auch bei sterilisierten Suprareninlösungen nach längerer Aufbewahrungszeit eine Abnahme der Wirksamkeit feststellen konnte, als Ursache der Zerstörung des Suprarenins das aus dem Glase abgespaltene Alkali anzusehen. So weist Grübler[3]) darauf hin, daß nach seinen Versuchen

[1]) Embden und v. Fürth, Über die Zerstörung des Suprarenins im Organismus. Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. 4, 1903.

[2]) Kretschmer, Über die Beeinflussung der Adrenalinwirkung durch Säure. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. 57, 438, 1907.

[3]) Grübler, Über die Wirkung von freiem Alkali auf Morphium und Adrenalin; ein Beitrag zur Sterilisation. Pharm. Post 40, zit. nach Pharm. Zentralhalle 1908.

Suprarenin nur dann ohne Schaden sterilisierbar sei, wenn das Glas der benutzten Ampullen völlig alkalifrei ist. Auch Budde[1]) fordert, daß die Suprareninlösungen einen gewissen Säureüberschuß enthalten, damit sie haltbar bleiben. Einen scheinbaren Gegensatz dazu bildet die Mitteilung Rowes[2]), derzufolge das salzsaure Adrenalin[3]) angeblich ohne jede Schädigung 3 Stunden auf die Temperatur des siedenden Wassers erhitzt werden kann; der Widerspruch ist nur scheinbar, da das Adrenalin stets einen gewissen Säureüberschuß enthält. Nach Untersuchungen Drostes[4]) bewirkt aber nicht nur das abgespaltene Alkali die Zerstörung, sondern diese kann auch in alkalifreien Gläsern durch die Sterilisation allein, also durch Hitze und Druck, ermöglicht werden. Droste gibt an, daß bei Überdruck im Autoklaven selbst bei saurer Reaktion völlige Zersetzung stattfindet

Es erschien daher doch auch praktisch sehr wichtig, einmal die im Handel befindlichen Adrenalin- und Suprareninlösungen der verschiedensten Hersteller auf ihren Gehalt an Suprarenin zu untersuchen. Die Untersuchung wurde auch auf handelsübliche Tabletten ausgedehnt, da sich schon bei Budde die Angabe findet, daß sich Tabletten mit Novocain- und Tropacocain-Suprareninmischungen auch nicht auf die Dauer halten. Die Präparate wurden teils gleich nach der Beschaffung, teils nach einiger Lagerzeit untersucht. Den Höchster Farbwerken wie der Handelsgesellschaft Deutscher Apotheker möchte ich auch an dieser Stelle für freundliche Überlassung des Materials meinen besten Dank aussprechen.

Untersuchungsmethode.

Für die Bestimmung des Suprarenins kommen biologische und chemische, d. i. colorimetrische Methoden in Betracht. Die

---

[1]) Budde, Über feldbrauchbare Packungen neuerer Arzneimittel usw. Apotheker-Zeitung 202, 1912.

[2]) Rowe, Die Sterilisation von Adrenalinlösungen. Amer. Journ. of Pharm. 86.

[3]) Adrenalin und Suprarenin werden häufig synonym gebraucht; in vorliegender Arbeit wird unter Adrenalin das aus Nebennieren gewonnene Präparat von Parke Davis & Co. verstanden, während Suprarenin das Höchster Präparat bezeichnet.

[4]) Droste, Über das Keimfreimachen von Ampullen mit Morphium und Suprareninlösungen durch Hitze. Pharm. Ztg. 58, 1913.

empfindlicheren und mehr spezifischen sind sicherlich die biologischen; doch dürften im allgemeinen da, wo es sich bestimmt um Suprarenin, und zwar um verhältnismäßig große Mengen handelt, wie im vorliegenden Fall, die colorimetrischen Methoden an Genauigkeit ausreichen, die sich ja auch noch durch die bei weitem angenehmere, leichtere Technik auszeichnen.

Kürzlich haben Folin, Cannon und Denis[1]) eine Methode zur quantitativen Suprareninbestimmung unter Benutzung der Folinschen[2]) colorimetrischen Bestimmungsmethode für Harnsäure angegeben. Letztere beruht darauf, daß in Harnsäurelösungen nach Zusatz von Phosphorwolframsäure und Natriumcarbonat eine Blaufärbung entsteht, deren Zustandekommen von dem Verhältnis der zur Bildung der Phosphorwolframsäure angewandten Mengen wolframsauren Natriums und Phosphorsäure abhängig ist. Dieselbe Blaufärbung geben aber auch Polyphenole, so daß man diese vor der Harnsäurebestimmung mit dieser Methode erst aus dem Urin entfernen muß. Nach den von Folin mitgeteilten Resultaten scheint die Methode recht brauchbar zu sein.

Nun ist das Suprarenin aber auch ein Polyphenol, so daß die Möglichkeit von vornherein bestand, seine Reaktion mit Phosphorwolframsäure wegen der schönen blauen Farbe zur quantitativen, colorimetrischen Bestimmung zu benutzen. Es muß dies überall da geschehen können, wo die Blaufärbung allein auf das Vorhandensein von Suprarenin bezogen werden kann; eine direkte Bestimmung im Blut ist z. B. schon wegen der vorhandenen Harnsäure ausgeschlossen. Die Methode gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen:

1. Herstellung der Phosphorwolframsäure „Harnsäurereagens“: Zu 750 g Wasser füge 100 g wolframsaures Natrium und 80 ccm 85 $^0/_0$ige Phosphorsäure (acid. posph. syrupiforme). Erwärme vorsichtig $1^1/_2$ bis 2 Stunden und fülle dann auf 1 l auf.

2. Bestimmung: 1 bis 5 ccm Suprareninlösung werden in

---

[1]) Folin, Cannon und Denis, A new colorimetric method for the determination of epinephrine. Journ. of biological chemistry **13**, 477.

[2]) Folin und Macallum, A new method for the (colorimetric) determination of uric acid in urine. Journ. of Biol. Chem. **13**, 363.

eine 100 ccm-Flasche gebracht, in eine andere 1 ccm Harnsäurelösung (= 1 mg Harnsäure). Zu jeder Flasche werden 2 ccm von dem Harnsäurereagens hinzugefügt und 20 ccm gesättigte Natriumcarbonatlösung. Nachdem man diese Lösungen 2 bis 3 Minuten hat stehen lassen, werden sie auf 100 ccm aufgefüllt und durchgeschüttelt. Die Farbenvergleichung wird in einem Colorimeter vorgenommen. Die Berechnung des Suprareningehaltes geschieht so, daß man ihn zunächst so ausrechnet, als ob es Harnsäure wäre, und die erhaltene Zahl durch 3 dividiert, weil das Suprarenin eine dreimal so starke Farbe gibt wie das gleiche Gewicht Harnsäure. Nach meinen Untersuchungen ist der genaue Divisor 2,98; die Harnsäuretestlösung wurde mittels der von Kahlbaum bezogenen reinen Harnsäure hergestellt.

Die Verfasser haben die Genauigkeit ihrer Methode durch Bestimmung des Suprareningehaltes in Lösungen bekannter Konzentration geprüft und dabei nur unwesentliche Differenzen gefunden. Außerdem haben sie bei Untersuchungen über den Suprareningehalt der Nebennieren von Schaf und Lamm diesen sowohl nach ihrer Methode als auch mit Hilfe der Bestimmung durch Blutdrucksteigerung festgestellt. Auch hier gab es nur die für solche Untersuchungen außerordentlich geringen Differenzen von 0—2—4—8 %. Die Empfindlichkeitsgrenze ihrer Reaktion geben die Verfasser auf 1 : 3000000 an. Das ist eine sehr große Empfindlichkeit, da der Grenzwert gewöhnlicher Oxydations-Farbenreaktionen des Suprarenins nach Untersuchungen Borbergs[1]) bei 1 : 300000 liegt. Ich habe mich aber von der Richtigkeit der Angabe durch eigene Versuche überzeugt. Außerdem habe ich diese Methode in ihrer Genauigkeit an der Durchströmungsmethode am Gefäßpräparat des Frosches nach Läwen-Trendelenburg[2]) geprüft. Hierbei wird zunächst die Empfindlichkeit des Präparates mit Hilfe einer Suprareninlösung bekannten Gehaltes festgestellt. Ich benutzte dazu eine frisch bereitete Lösung von Supr. bitart. synth., deren Zubereitung weiter unten noch ausführlich beschrieben wird, mit

[1]) Borberg, Das Adrenalin und der Nachweis desselben. Skandin. Arch. f. Physiol. **27**, 341 ff.

[2]) Läwen, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **51**. Trendelenburg, Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. **63**.

einer Konzentration von 1 : 1000, bezogen auf reine Suprareninbase. Von dieser Stammlösung erzielte die Konzentration 1 : 500000 noch deutliche Gefäßverengerung, kenntlich an der Stromverlangsamung und der infolgedessen auftretenden Verringerung der registrierten Anzahl von Tropfen in der Zeiteinheit.

Von den beiden zur Untersuchung herangezogenen Lösungen von Supr. hydrochlorid. verschiedenen Alters mit dem angegebenen Gehalt an Supraranin von 1 : 1000 erzielte an dem so geeichten Gefäßpräparat die eine bei 1 : 475000, die andere 1 : 250000 annähernd die gleiche Gefäßverengerung, wie sie sich durch die fast gleiche Verringerung der registrierten Anzahl von Tropfen in der Zeiteinheit kundtat.

Die gleichen Lösungen wurden nun auch nach der Folinschen Methode auf ihren Suprareningehalt geprüft, wobei als Testlösung stets eine Lösung von 1 mg Harnsäure von Kahlbaum benutzt wurde.

Als Colorimeter verwandte ich hier wie bei den nachfolgenden Untersuchungen das Chromophotometer nach Plesch, das sich dadurch auszeichnet, daß infolge sinnreicher Prismenanordnung das einfallende Licht in zwei Bündel gespalten wird, die durch die beiden zu vergleichenden Flüssigkeiten gehen und sich im Beobachtungsfeld so treffen, daß das eine einen Ring bildet, dessen Zentrum von dem anderen ausgefüllt wird. Hierdurch ist die Vergleichung und Einstellung außerordentlich erleichtert. Der Apparat arbeitet bei einiger Übung so genau, daß kaum Fehler von mehr als 0,5% auftreten.

In folgender Tabelle sind die nach Läwen-Trendelenburg und nach Folin erhaltenen Werte zusammengestellt.

Untersuchte Substanz	Angegebener Gehalt an Supr.-Base in mg	Gefunden nach Läwen-Trendelenburg		Gefunden nach Folin
		Konzentration	mg	mg
1. Suprar. bitart.	1,0	1 : 500000	1,0	1,0
2. Suprar. hydrochlor. frisch	1,0	1 : 475000	0,95	0,97
3. Suprar. hydrochlorid. 3½ Jahr alt	1,0	1 : 250000	0,5	0,51

Nach dieser Tabelle finden sich zwischen der Folinschen Methode und der Bestimmung nach Läwen-Trendelenburg

Differenzen von kaum mehr als 2 $^0/_0$. Somit ist diese Methode zur quantitativen Suprareninbestimmung in reinen Suprareninlösungen durchaus brauchbar.

Auf die in der Tabelle zum Ausdruck kommende Abnahme des Suprareningehaltes in der $3^1/_2$ Jahre alten Lösung soll hier nur hingewiesen werden; eine genauere Besprechung findet im Zusammenhang mit den übrigen Ergebnissen der Untersuchungen statt.

Einen Nachteil der Folinschen Methode bildet das verhältnismäßig rasche Verblassen der blauen Farbe, was größere Reihenuntersuchungen unmöglich macht. Ferner ist die Methode, ganz abgesehen von der schon oben besprochenen Beeinträchtigung durch andere Polyphenole und Harnsäure, was ja für den vorliegenden Fall kaum in Frage käme, auch nicht anwendbar für alkaloidhaltige Suprareninlösungen, da ja die im Harnsäurereagens nthaltene Phosphorwolframsäure mit diesen Substanzen einen, Niederschlag bildet. Die zu untersuchenden Lösungen und Tabletten enthielten aber nicht selten Zusätze von Cocain, Novocain und Alypin. Das Abfiltrieren von den entstehenden Niederschlägen führt nicht zum Ziele, da ich in einem Versuch mit frisch hergestellter Lösung von 0,05 g Cocain. hydrochl. und 1,0 mg Supraren. hydrochl. (berechnet als Base) auf 10 ccm Wasser statt der in 2 ccm enthalten sein sollenden Menge von 0,2 mg Supraren. nur 0,167 mg, also 84 $^0/_0$ wiederfand. Besser war das Verhältnis nach dem Zentrifugieren, in welchem Falle ich statt der in 2 ccm enthalten sein sollenden 0,2 mg fast 100 $^0/_0$, nämlich 0,199 mg erhielt. Wesentlich ungünstiger liegen die Verhältnisse, wenn neben dem Suprarenin Novocain vorhanden ist. Hier war bei einer Lösung von 0,1 g Novocain in 2 ccm Suprareninhydrochloridlösung mit einem Gehalt von 0,82 mg Suprareninbase das erhaltene Filtrat vollkommen farblos, während ich in einer gleichen Lösung nach dem Zentrifugieren 0,17 mg, also 20,7 $^0/_0$, wiederfand. Das hat seinen Grund wohl auch noch darin, daß die Novocain-Suprareninlösung ihre durch das Reagens entstandene blaue Farbe bei weitem rascher verliert als reine Suprareninlösung.

Infolgedessen erschien die Folinsche Methode zur durchgängigen Prüfung für Handelspräparate ausgeschlossen. Aber auch die biologischen Methoden dürften zu diesem Zwecke

unbrauchbar sein. Denn Froehlich und Loewi[1]) haben nachgewiesen, daß die Suprarenineinwirkung auf Blutgefäße und Blutdruck, Harnblase und Auge durch kleine, an sich wirkungslose Cocainmengen ganz erheblich gesteigert werden kann. Somit könnte bei Benutzung dieser Organwirkungen des Suprarenins zu seiner quantitativen Bestimmung leicht ein höherer Gehalt an Suprarenin als wirklich vorhanden vorgetäuscht werden.

Um alle diese Schwierigkeiten zu überwinden, die sich bei der Folinschen Phosphorwolframsäurereaktion und den biologischen Methoden der durchgängigen Untersuchung entgegenstellen, mußte eine Methode zur Suprareninbestimmung gefunden werden, die bei genügender Empfindlichkeit durch Gegenwart von Cocain, Novocain und Alypin nich gestört wird, wenigstens nicht durch solche Mengen, wie sie durch die Untersuchungsobjekte selbst dageboten werden.

Als aussichtsreich, diesen Bedingungen gerecht zu werden, erschien uns die charakteristische Suprareninreaktion, die von Fränkel und Allers[2]) angegeben worden ist. Man setzt zur Suprareninlösung das gleiche Volumen $^{n}/_{1000}$-Natrium- oder Kaliumbijodatlösung und einige Tropfen Phosphorsäure hinzu; es entsteht eine Rotfärbung, die in der Wärme ziemlich schnell auftritt. Diese Reaktion beruht wahrscheinlich darauf, daß Jodsäure mit dem Suprareninmolekül eine Verbindung eingeht, über deren Art man jedoch im unklaren ist. Interessant ist es jedenfalls, daß die Verfasser einen Verbrauch von Jodsäure während der Reaktion feststellen konnten. Um eine Abspaltung von Jod und eine Reaktion mit diesem freien Jod scheint es sich nicht zu handeln, da die Verfasser in keinem Stadium der Reaktion freies Jod nachweisen konnten. Die Reaktion ist außerordentlich spezifisch, da dem Suprarenin selbst nahe verwandte Stoffe, wie z. B. das Brenzcatechin, sie nicht geben.

Als Empfindlichkeitsgrenze ihrer Jodsäurereaktion geben

---

[1]) Froehlich u. Loewi, Unters. z. Physiol. Pharmakol. des veget. Nervensystems II. Über eine Steigerung der Adrenalinempfindlichkeit durch Cocain, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62.

[2]) Fränkel u. Allers, Über eine neue charakteristische Adrenalinreaktion. Biochem. Zeitschr. 18, 40.

Fränkel und Allers die Konzentration von 1:300000 an, eine Zahl, die auch von Borberg bestätigt wurde. Ich konnte die Reaktion bei wiederholten Versuchen sicher nur bis zu einer Suprareninkonzentration von 1:100000 erhalten. Damit bleibt die Fränkel-Allerssche Reaktion um ein Beträchtliches in der Empfindlichkeit hinter der Folinschen und den biologischen Reaktionen zurück; sie hat jedoch vor diesen den Vorzug, daß sie durch die Gegenwart von Cocain und Novocain, wie ich durch einige Versuche feststellen konnte, nicht beeinträchtigt wird.

Nun hat aber Bayer[1]) gefunden, daß fast sämtliche Suprareninreaktionen durch Zusatz von Sulfanil- oder Naphthionsäure in ihrer Empfindlichkeit ganz außerordentlich gesteigert werden können, zum Teil allerdings unter Veränderung der ursprünglichen Farbe. In demselben Sinne wird auch die Fränkel-Allerssche Jodsäurereaktion durch geringe Mengen von Sulfanil- oder Naphthionsäure beeinflußt; die Empfindlichkeitsgrenze soll nach Bayer durch Naphthionsäure auf 1:500000 und durch Sulfanilsäure gar auf 1 : 5000000 hinaufgerückt werden. Da die Steigerung durch Sulfanilsäure so viel erheblicher ist als durch Naphthionsäure, wurde nur sie für den weiteren Ausbau einer quantitativen Suprareninbestimmungsmethode in Betracht gezogen. Die bei Sulfanilsäurezusatz entstehende Farbe der Jodsäurereaktion ist nun nicht mehr rot, sondern gelb.

Auch Ewins[2]) konnte durch seine Versuche nach Sulfanilsäurezusatz die Jodsäurereaktion bei 1 : 5000000 erhalten und so Bayers Angabe bestätigen. Es scheint allerdings, daß hierbei die Gegenwart oder das Fehlen von H-Ionen eine Rolle spielt. Ich erhielt nämlich einen positiven Ausfall der Probe bei der gewöhnlich von mir benutzten Lösung von Suprar. bitart. in $^{n}/_{100}$-HCl nur bei der Konzentration 1 : 1000000; neutralisierte ich jedoch vor dem Anstellen der Probe die Suprareninlösung genau mit Natriumcarbonatlösung, so erhielt ich noch bei 1 : 2000000 ein positives Ergebnis; setzte ich noch mehr Natriumcarbonat hinzu, so daß nach dem Zusatz der ver-

---

[1]) Bayer, Verschärfung der Adrenalinreaktion, diese Zeitschrift 20, 182.

[2]) Ewins, Some colour reactions of adrenine and allied bases, Journ. of Physiol. 40, 317, 1910.

schiedenen Reagentien noch schwach saure Reaktion bestand, so fiel die Probe auch bei 1 : 5000000 positiv aus. Es ist das ein hemmender Einfluß stark dissoziierter Säuren, zu denen ja auch die Salzsäure gehört, auf die Empfindlichkeit der Suprareninproben, auf den Borberg schon aufmerksam macht, allerdings mit der Einschränkung, daß die Fränkel-Allerssche Jodsäureprobe durch Gegenwart von Salzsäure nicht merklich beeinflußt wird. Ich habe diesen Einfluß auch nur bei der Bayerschen Modifikation feststellen können, nicht dagegen bei der ursprünglichen Jodsäureprobe, die ich mit und ohne Natriumcarbonatzusatz bei 1 : 100000 positiv fand.

Die Fränkel-Allers-Bayersche Probe kommt also auf jeden Fall den biologischen Reaktionen in der Empfindlichkeit nahe; sie verliert aber, wie Bayer selbst angibt, an Spezifität gegenüber der ursprünglichen Fränkel-Allersschen Reaktion, da bei Gegenwart von Sulfanilsäure auch andere, dem Suprarenin verwandte Stoffe, z. B. Brenzcatechin, ähnlich wie das Suprarenin reagieren. Die Frage, auf welche Weise die Empfindlichkeitssteigerung durch die Sulfanilsäure zustande kommt, und ob die nach Sulfanilsäurezusatz stattfindende Jodsäurereaktion nicht ganz anders verläuft als die ursprüngliche, läßt sich noch nicht erörtern, zumal Fränkel die in Aussicht gestellten stöchiometrischen Untersuchungen über die Jodsäure-Suprareninreaktion leider noch nicht veröffentlicht hat. Der Gedanke, daß es sich um eine andersartig verlaufende Reaktion handeln könnte, wird jedenfalls durch die verschiedene Farbe, das verschiedene Verhalten bei Gegenwart von Salzsäure und den Verlust der bei der ursprünglichen Reaktion so strengen Spezifität nahegelegt.

Für unsere Zwecke dürfte diese Einbuße an Spezifität belanglos sein, da es sich ja bei den vorliegenden Untersuchungen nicht um Identifizierung einer unbekannten Substanz handelt. In diesem Fall muß es genügend sein, wenn die im Untersuchungsobjekt noch vorhandenen anderen Substanzen keine eigene Färbung mit dem für das Suprarenin angewandten Reagens hervorrufen. Für uns kam Cocain, Novocain und Alypin in Betracht. Mit allen diesen Substanzen wurde die Jodsäurereaktion bei Gegenwart von Sulfanilsäure angestellt; das Ergebnis war, daß die Lösungen farblos blieben und auch ebenso

wie bei der einfachen Jodsäurereaktion kein Niederschlag entstand. Wurde die Fränkel-Allers-Bayersche (F.A.B.) Reaktion mit Suprareninlösungen angestellt, die Cocain und Alypin enthielten, so stimmte der Farbenton mit dem reiner Suprareninlösungen, mit denen die F.A.B.-Reaktion angestellt war, völlig überein. Etwas anders verhielten sich Novocain enthaltende Suprareninlösungen, da diese nach Anstellung der F.A.B.-Reaktion einen mehr rein gelblichen Farbenton zeigten gegenüber dem etwas rötlich-gelblichen der ebenso behandelten reinen Suprareninlösungen. Ich konnte feststellen, daß dieser mehr rein gelbliche Farbenton derselbe blieb, ob nun die Suprareninlösung 0,1 oder 0,2 oder 0,3 g Novocain enthielt. Auch wenn ich zu den Novocain-Suprareninlösungen Cocain oder Alypin hinzusetzte, und zwar in Mengen, wie sie durch die Untersuchungsobjekte geboten waren, d. i. höchstens 0,05 g, und dann mit ihnen die F.A.B.-Reaktion anstellte, entstand wieder der mehr rein gelbliche Farbenton, der mit dem in reinen Novocain-Suprareninlösungen entstandenen völlig übereinstimmte. Es erschien daher zweckmäßig, um gleichmäßige Untersuchungen anstellen zu können, zu sämtlichen Untersuchungsobjekten eine gewisse Menge Novocain hinzuzusetzen, und zwar auch zu den schon Novocain enthaltenden. Es wurde die Menge von je 0,1 g gewählt; da die bereits Novocain enthaltenden Suprareninpräparate höchstens 0,1 g Novocain nach Angabe enthielten so betrug die vorhandene Novocainmenge sicher nie mehr als 0,2 g. Wie wir gesehen haben, ist die nach der F.A.B.-Reaktion entstehende Farbe die gleiche, ob 0,1 oder 0,2 g Novocain vorhanden ist, so daß also dieser verschiedene Novocaingehalt einer gleichmäßigen Untersuchung nicht hinderlich ist.

Im einzelnen gestaltete sich die angewandte Methode folgendermaßen: In Reagensgläser bringt man 1 ccm der zu untersuchenden Suprareninlösung, bzw. eine Tablette in 1 ccm destillierten Wassers gelöst, setzt dann 1 ccm 10%ige Novocainlösung, 1 ccm gesättigte Sulfanilsäure (1,0 : 112,0), 2 ccm $^{n}/_{1000}$-Kaliumbijodatlösung und 1 ccm 10%ige Phosphorsäure hinzu. Alsdann bringt man die Reagensgläser für 60 Sekunden in ein siedendes Wasserbad. Nach der Herausnahme wartet man etwa 5 Minuten, dann wird der Inhalt der Gläschen in 25 ccm-Kölbchen gebracht und bis zur Marke mit destilliertem Wasser

aufgefüllt, umgeschüttelt und nun die inzwischen ganz kalt gewordene Flüssigkeit im Colorimeter mit einer ebenso behandelten Suprareninlösung bekannter Zusammensetzung verglichen. Diese Suprareninlösung wurde durch Auflösen von 18,2 mg Supraren. bitartar. synthet. in 10 ccm $^{n}/_{100}$-HCl und nachherige Verdünnung mit destilliertem Wasser von 1 auf 10 erhalten; sie stellte also auf reine Suprareninbase bezogen eine Konzentration von 1 : 10000 dar (1 ccm = 0,1 mg). Die Farbe bleibt sehr lange ohne merkliche Abblassung bestehen, jedenfalls länger als 3 bis 4 Stunden, so daß man im Gegensatz zur Folinschen Methode mit einer Testlösung eine ganze Reihe von Proben untersuchen kann. Versuche, die Testlösung durch eine gleich gefärbte Jodlösung (Tinktur oder Lugolsche Lösung) zu ersetzen, schlugen wegen geringer Unterschiede im Farbenton fehl.

Als Colorimeter wurde wieder das Chromophotometer nach Plesch benutzt, auf dessen Vorzüge schon oben hingewiesen wurde.

Zur Prüfung der Methode wurden verschiedene bestimmte Mengen von Supraren. bitart. in $^{n}/_{100}$-HCl gelöst und dann mit je 1 ccm derselben die Probe angestellt und diese mit der Testlösung 1 : 10000 verglichen.

	Suprareninmenge, berechnet als Base, die vorhanden sein soll	aufgefunden wurde
1	0,1 mg	0,098 mg
2	0,02 „	0,02020 „
3	0,01 „	0,01014 „

Danach dürfte die Methode für unsere Zwecke hinreichend genau arbeiten. Außerdem wurden die Präparate, soweit es anging, sowohl nach der Folinschen Methode als auch mit Hilfe der F.A.B.-Reaktion untersucht, wobei gut übereinstimmende Werte gefunden wurden. Das Nähere ist aus der Tabelle zu ersehen, in der die Untersuchungsergebnisse zusammengestellt sind.

Untersuchungsergebnisse.

Zur Untersuchung herangezogen wurden Präparate von Meister, Lucius & Brüning (Höchst), sowie mit Adrenalin (Parke, Davis & Co.) und Suprarenin (Höchst) hergestellte Handelspräparate verschiedener Firmen. Ich führe diese Firmen nicht

Nr.	Herstellende Firma und Bezeichnung der Präparate	Angegebene Suprareninmenge in mg der Base	Gefundenes Suprarenin untersucht: beim Einkauf mg	beim Einkauf %	nach 15 Monaten mg	nach 15 Monaten %	Nach $3^1/_2$ Jahren mg	Nach $3^1/_2$ Jahren %	Nach $4^3/_4$ Jahren mg	Nach $4^3/_4$ Jahren %
1 a)	Meister, Lucius & Brüning Lösung von Suprar. synthet. hydrochl.	1,0	0,97 —	97 —	0,92 —	92 —	0,51 —	51	0,34 0,34	34
b)	Suprar. synthet. pur. in Substanz	1,0	0,75 —	75 —	— —	— —	0,68 —	68		
c)	Suprar. bitart. synth. in Substanz	0,55	0,55 —	100 —	0,55 0,55	100	0,540 0,545	98		
d)	Novocain - Suprareninlösung 2 % in Ampullen	0,05	— 0,051	102	— 0,049	98				
e)	Novocain 0,015-Supranintabletten	0,05	— 0,050	100	— 0,038	76				
2 a)	Marke 2 Ampullen Adrenalin 1 : 1000	0,5	0,193 —	38	0,18 0,162	36 32				
b)	Cocain 0,01 Suprar. bor. 0,00013	0,1	0,032 —	32	— 0,03	30				
3 a)	Marke 3 Tabletten, Cocain 0,01, Supr. bor. 0,00013	0,1	0,021 —	21	— 0,02	— 20				
b)	Cocain 0,05, Supr. bor. 0,00065	0,5	0,14 —	28	— 0,15	30				
c)	Novocain 0,1, Supr. bor. 0,00045	0,35	— 0,06	— 17	— 0,05	— 14				
4 a)	Marke 4 Ampullen Adrenalin 1 : 1000	0,025	0,018 —	72	— (0,0001)	— (0,4)				
b)	Cocain 0,005, Adren. 0,0005	0,5	0,326 —	65	0,28 0,28	56				
c)	Tabletten hypoderm. {Adren. 0,00065, Cocain 0,05, NaCl 0,009}	0,65	0,164 —	25	0,14 0,17	21 26				
5 a)	Marke 5 Ampullen Adrenalin 0,05 (1 : 1000) Cocain mur. 0,0075	0,05	— 0,05	100	— 0,035	70				
b)	Novocain 0,02 Suprar. (1 : 1000) 0,05	0,05	— 0,05	100	×	×				
c)	Novocain 0,02 Adrenalin (1 : 1000) 0,05	0,05	— 0,05	100	×	×				
6 a)	Marke 6 Ampullen Supr. base 0,00005 Cocain mur. 0,01 Tabletten	0,05	— 0,05	100	— 0,042	84				
b)	Supr. base 0,00005 Cocain mur. 0,01 Tabletten	0,05	— 0,051	102	— 0,036	72				
c)	Alypin 0,05 Supr. bor. 0,00033	0,25	0,147	59	0,117	47				

namentlich auf, sondern begnüge mich, sie zu numerieren und so auseinander zu halten. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt, wobei zu bemerken ist, daß sämtliche in der Tabelle angegebenen Suprareninwerte als reine Base berechnet sind. Die oberen Zahlen stellen die nach Folin, die unteren die mit der F.A.B.-Reaktion erhaltenen Werte dar. Die Präparate wurden gleich nach der Beschaffung und nach 15 Monate langer Lagerzeit, zum Teil auch noch nach $3^1/_2$ und $4^3/_4$ Jahren untersucht.

Die Tabletten von Marke 6b waren sehr ungleich in ihrer Größe. Ihr Gewicht schwankte zwischen 10,0 und 25,6 mg, und selbst wenn man dieses kleinste Gewicht durch Spalten einer normalen Tablette erklären wollte, so war das nächst niedrigste Gewicht immerhin 17,2 mg, so daß also immer noch eine Differenz von 8,4 mg bestehen bleibt, während sich bei den Höchster Tabletten z. B. nur Differenzen von höchstens 0,1 bis 0,2 mg fanden.

Die Untersuchungen geben eine Bestätigung für die schon bekannte Unbeständigkeit der reinen Base im Gegensatz zu der Haltbarkeit des Bitartrats. Es geht ferner aus ihnen hervor, daß im allgemeinen die Tabletten mit Novocain- und Cocainmischungen gegenüber den gleichartigen Ampullen bei gleich langer Lagerzeit mehr an ihrem Suprareningehalt einbüßen. Dies zeigt die folgende Zusammenstellung

Präparate	Suprareningehalt der Tabletten untersucht		Suprareningehalt der Ampullen untersucht		Mehrverlust der Tabletten gegenüber den Ampullen
	gleich	nach 15 Monaten	gleich	nach 15 Monaten	
Höchst Novocainmischung	100 %	76 %	100 %	98 %	22 %
Marke 4	25 %	21 %	65 %	56 %	$2^1/_4$%
Marke 6	102 %	72 %	100 %	84 %	13,4 %

Die größere Haltbarkeit der Lösungen in Ampullen mag wohl an dem jetzt üblichen Salzsäurezusatz liegen, der das vom Glase etwa abgespaltene Alkali neutralisiert; denn gerade bei den Lösungen, die sich am besten gehalten hatten, nämlich denen von „Höchst“, konnte ich die Alkaliabspaltung des Glases bei 2stündigem Kochen feststellen. Die Ampullen der Marke 5, die nach 15 Monaten eine so braun gefärbte Flüssigkeit ent-

hielten, daß eine Bestimmung nach der F.A.B.-Reaktion unmöglich war (in der Tabelle durch × gekennzeichnet)[1]), spalteten bei gleich langem Kochen kein nachweisbares Alkali ab. Ob bei dieser Reihe von Ampullen die Zersetzung schon durch die Sterilisation allein (im Sinne Drostes) bedingt war, möge dahingestellt bleiben. Nur bei den Adrenalinampullen der Marke 4, die in 15 Monaten eine Abnahme von 72 % auf (0,4 %)[2]) gezeigt hatten, läßt sich wohl die nachgewiesene Alkaliabspaltung für die Zersetzung verantwortlich machen.

Im allgemeinen kann man sagen, daß von dem nach der Sterilisation in den Ampullen tatsächlich vorhandenen Suprareninwert in 15 Monaten keine wesentliche Abnahme stattfindet, wenn geringe Salzsäuremengen vorhanden sind. Daß dieser Wert bei manchen Präparaten nur $^1/_4$ des angegebenen ausmacht, ist eine Sache für sich; doch berechtigt wohl dieser Umstand dazu, die Forderung aufzustellen, sterilisierte Suprareninlösungen vor ihrer Einführung in den Handel erst auf ihren wirklichen Gehalt an Suprarenin zu prüfen.

Eine länger als 15 Monate währende Lagerzeit dürfte sich wohl kaum empfehlen, da dann doch eine weitere Zersetzung einzutreten scheint. Bei einer Lösung synthetischen Suprareninhydrochlorids ließ sich nach $3^1/_2$ Jahren nämlich nur noch etwa die Hälfte, nach $4^3/_4$ Jahren etwa ein Drittel des ursprünglichen Suprareningehalts nachweisen.

Wenn man bedenkt, daß reine Suprareninlösungen im Gegensatz zu den Kombinationen sicherlich weit weniger verlangt werden, kann man sich nicht wundern, daß ich bei einer aus einer Berliner Apotheke bezogenen Suprareninhydrochloridlösung nur 82 % des angegebenen Suprareninwertes fand, obwohl es eine „Höchster" Originalpackung war, für die ich, frisch von der Fabrik bezogen, 97 % und nach 15 Monaten 92 % hatte feststellen können. Diese Flasche lagerte also sicherlich schon mehr als 15 Monate.

---

[1]) Der nach der Folinschen Methode erhaltene Niederschlag zeigte keine Blaufärbung.

[2]) Ich gebe die Zahl in Klammern an, da wegen der geringen Menge die genaue quantitative Bestimmung weder nach Folin noch nach F.A.B. möglich war. Nach F.A.B. entsprach die Lösung etwa einer Konzentration von 1 : 1 Million.

Zusammenfassung.

1. Die quantitative colorimetrische Suprareninbestimmung nach der Folinschen Methode liefert, geprüft an der biologischen Durchströmungsmethode nach Läwen-Trendelenburg, sehr genaue Resultate. Die Methode ist jedoch nicht bei Gegenwart von Novocain und Alypin verwendbar.

2. Als Methode zur quantitativen Bestimmung des Suprareningehaltes in Handelspräparaten des Suprarenins und Adrenalins hat sich die auf der Fränkel-Allers-Bayerschen Jodsäurereaktion aufgebaute colorimetrische Untersuchungsmethode als brauchbar erwiesen.

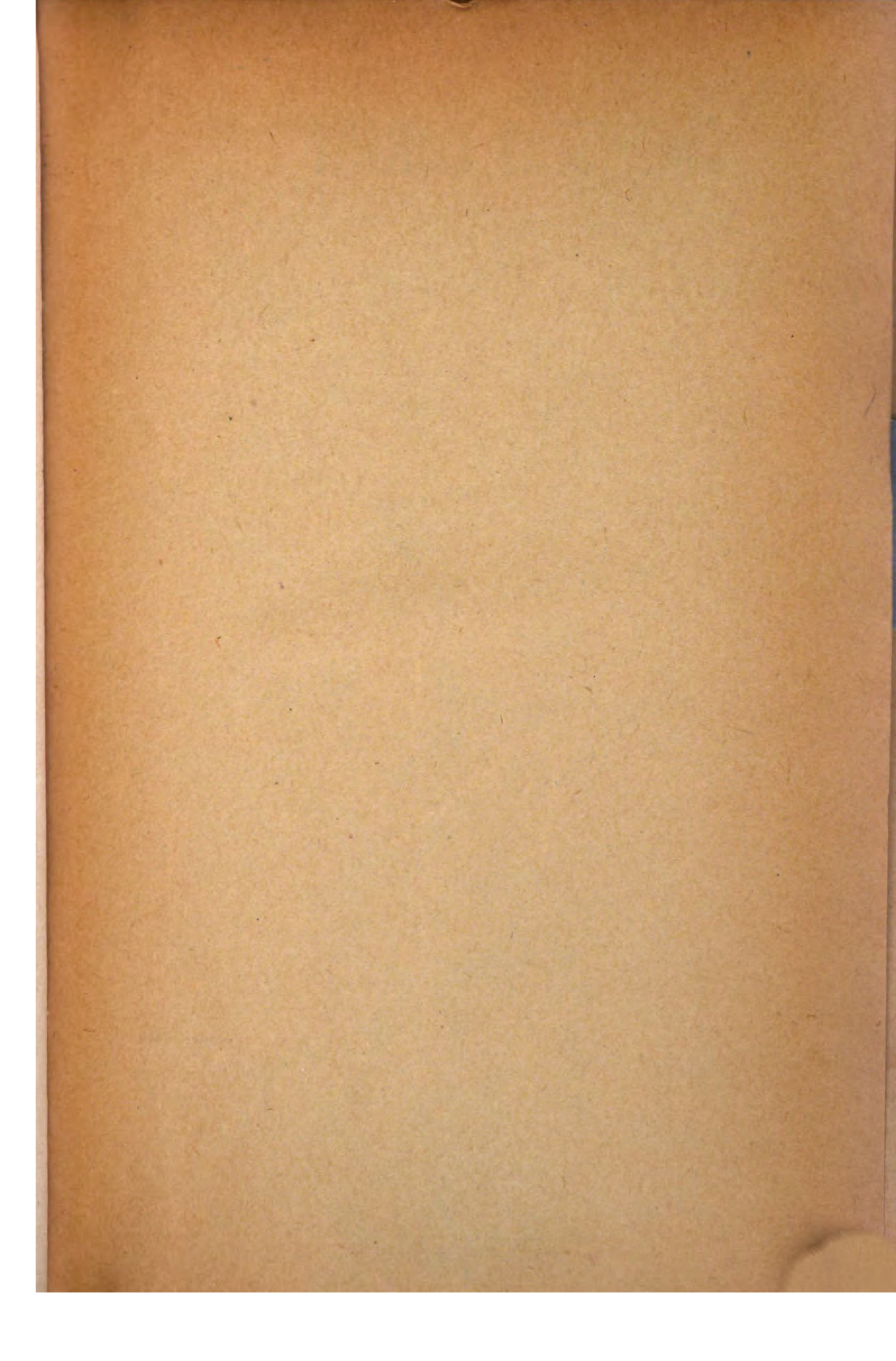
3. Der tatsächlich vorhandene Suprareningehalt zeigt gegen den angegebenen bei manchen frisch bezogenen Handelspräparaten (Marke 2 und 3) Unterschiede von 70 bis 80%.

4. Ampullen sind im allgemeinen haltbarer als die gleichartigen im Handel befindlichen Tabletten.

5. Eine Lagerfrist von 15 Monaten veranlaßt im allgemeinen keine wesentliche Abnahme des einmal vorhandenen Suprareningehaltes der einen gewissen Salzsäurezusatz enthaltenden Ampullen. Eine längere Lagerfrist erscheint jedoch unzweckmäßig.

6. Sterilisierte, Suprarenin und Suprareninmischungen enthaltende Lösungen sind nach erfolgter Keimfreimachung vor der Einführung in den Handel auf ihren wirklichen Suprareningehalt zu prüfen.

Autorenverzeichnis.




3 2000 013 063 609



